

Фуртат І. М., Нечипуренко О. О., Вакулюк П. В.,
Вортман М. Я., Шевченко В. В.

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ТРАДИЦІЙНИХ І НОВОСИНТЕЗОВАНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЯК ОСНОВА СТВОРЕННЯ НОВИХ ДЕЗІНФІКУВАЛЬНИХ ЗАСОБІВ

У статті наведено результати дослідження антибактеріальних і фунгіцидних властивостей традиційних та новосинтезованих поверхнево-активних речовин різних класів. А також здійснено порівняльний аналіз антимікробної активності катіонних, аніонних та неіоногенних ПАР для з'ясування можливості подальшого їх застосування для створення дезінфікувальних засобів. На підставі отриманих даних розширено спектр про- та еукаріотичних тест-культур мікроорганізмів, щодо яких може здійснювати біоцидний вплив гуанідинвмісний олігомер. Зважаючи на те, що останній активно пригнічує представників видів *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, а також гриби *Candida albicans*, цю новосинтезовану ПАР можна вважати перспективною щодо подальшого використання для створення антимікробних засобів широкого спектра дії. На користь перспективності застосування гуанідинвмісного олігомеру як базової сполуки під час створення нових дезінфектантів свідчить широкий спектр антимікробної дії, стійкість під час зберігання, відсутність запаху та відносна простота синтезу.

Ключові слова: аніонні, катіонні, неіоногенні ПАР, антибактеріальна активність, фунгіцидна активність, дезінфектанти.

Вступ

Незважаючи на все різноманіття офіційно зареєстрованих нині дезінфікувальних засобів, кількість хімічних речовин, що входять до їхнього складу, доволі обмежена. Найпоширенішими серед них вважаються дезінфектанти, створені на основі четвертинних амонійних сполук (ЧАС), альдегідів, фенолів чи спиртів [1–3]. Окрім того, сучасні дезінфікувальні засоби за умов їх застосування мають характеризуватися якомога меншою часою експозицією та не спричиняти корозії металів, тобто бути інертними. Ефективність використання таких засобів також має бути зумовлена простотою застосування, гарною розчинністю засобу у воді, тривалістю терміну зберігання та екологічною безпекою. Слід наголосити, що одним із найголовніших критеріїв, за якими обирають ефективний дезінфектант, насамперед є властивий йому спектр антимікробної активності [1,4]. Тому під час створення нових дезінфікувальних засобів для розширення їхнього антимікробного спектра дію базової сполуки часто намагаються поліпшувати шляхом поєднання з кількома іншими хімічними речовинами, які вводять до складу засобу так, щоб вони підсилювали вплив основної

сполуки. Однак визначальна дія забезпечується основною хімічною речовиною, що входить до складу конкретного засобу.

Найперспективнішими щодо антимікробної дії вважаються катіонні поверхнево-активні речовини, оскільки порівняно з іншими ПАР вони мають найвищу бактерицидну активність [5,6]. Окрім того, катіонні ПАР є неагресивними, легкими, не мають смаку й запаху, стійкі під час зберігання, мають нейтральні значення рН і добре поєднуються з багатьма хімічними речовинами. Водночас широке використання катіонних ПАР призвело до значного накопичення їх у довкіллі, тим самим провокуючи формування стійкості в бактерій. Зважаючи на це, постійна увага спрямована на те, як раціонально розробити поверхнево-активні речовини для досягнення високо-ефективної антимікробної активності за менших концентрацій [5,6].

З огляду на викладене вище *метою роботи* було дослідити антибактеріальну та фунгіцидну активність традиційних і новосинтезованих поверхнево-активних речовин різних класів для з'ясування можливості подальшого їх застосування для створення нових дезінфікувальних засобів.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були різні класи ПАР (аніонні, катіонні, неіоногенні), частину з яких було синтезовано в Інституті хімії високомолекулярних сполук НАН України, а також широко вживані детергенти й глутаровий альдегід (ГА). Серед катіонних ПАР вивчали дві новосинтезовані сполуки, а саме гуанідинвмісний олігомер (ГВО) на основі ароматичного олігоепоксиду та гуанідингідрохлориду з кінцевими гуанідиновими фрагментами [7], ПАР 1 з кінцевими етаноламінами фрагментами, а також триетаноламін (ТЕА, «хч», Україна). Останній виявляє властивості третинних амінів і тріолів, добре розчинний у воді, спирті та ацетоні [8,9]. Новосинтезована ПАР 1 є продуктом взаємодії аліфатичного олігоепоксиду-дигліцидилового етеру диетиленгліколю і моноетаноламіну за мольного співвідношення компонентів 1 : 2; молекулярна маса речовини 422 г/моль, коефіцієнт граничної поверхневої активності становить 10^1 Н·м²/кмоль.

Як аніонні поверхнево-активні речовини також застосовували дві новосинтезовані сполуки (у роботі їх позначали як ПАР 2 та ПАР 3) і таку відому ПАР, як динатрієва сіль етилендіамінотетраоцтової кислоти (трилон Б, «хч», Нідерланди) [10]. ПАР 2 – це олігомер блокової будови, отриманий шляхом взаємодії сополімерів олігооксиетилендіаміну і олігооксипропілендіаміну ММ 2000 з кінцевими аміногрупами, ароматичного олігоепоксиду та сульфонілової кислоти за мольного співвідношення компонентів 1 : 2 : 2, загальна молекулярна маса сульфоновмісного олігоетеру становить 3100 г/моль, коефіцієнт граничної поверхневої активності – 10^3 Н·м²/кмоль. ПАР 3 – це олігомер блокової будови, продукт взаємодії олігооксипропіленгліколю ММ 2100 з фталевим ангідридом із подальшою реакцією з ароматичним олігоепоксидом та амінооцтовою кислотою за мольного співвідношення компонентів 1 : 2 : 2 : 2; молекулярна маса сполуки становить 3500 г/моль, коефіцієнт граничної поверхневої активності – 10^4 Н·м²/кмоль.

Серед неіоногенних ПАР у роботі використовували тритон Х-100 (Merck, Німеччина) та промислову неіоногенну поверхнево-активну речовину ОП-10, яка є продуктом взаємодії суміші моно- і диалкілфенолів з окисом етилену, добре розчинна у воді. Тритон Х-100 – це відомий водорозчинний детергент, що належить до групи неіоногенних трикомпонентних кополімерів етиленоксиду та пропіленоксиду, до складу якого входять гідрофільна поліетиленоксидна та ліпофільна карбоксильна (4-1,1,3,3-тетраметилбутил

фенольна) групи [11]. Окрім того, в роботі застосовували глутаровий альдегід (Sigma-Aldrich, США), який завдяки його властивостям широко застосовують у різних галузях, зокрема під час створення антисептиків і дезінфектантів [1,3,12].

Для визначення антимікробної активності усіх описаних вище сполук у дослідженні застосовували штами з різних колекцій, які підтримуються в музеї культур мікроорганізмів кафедри біології НаУКМА, а саме: грамнегативні (*Escherichia coli* BE, *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100) і грампозитивні (*Staphylococcus aureus* ССМ 209) бактерії, а також мікроскопічні одноклітинні гриби *Candida albicans* УКМУ-690. В експериментах використовували добові культури, з яких за допомогою денситометра Den-1 (Biosan, Латвія) виготовляли стандартизовані суспензії клітин мікроорганізмів у стерильному фізіологічному розчині NaCl, оптичною щільністю 0,5 одиниць Мак-Фарланда, що відповідає концентрації $1,5 \cdot 10^8$ клітин/мл – для бактерій та $1,0 \cdot 10^6$ клітин/мл – у випадку мікроскопічних одноклітинних грибів [13,14].

Біоцидну активність загалом і мінімальні інгібувальні концентрації (МІК) дослідних ПАР визначали методом 10-кратних серійних розведень у рідкому живильному середовищі – м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ, Himedia, Індія) [15]. Для цього виготовляли серію розведень дослідних речовин, кінцевою концентрацією 1000 – 0,1 ppm (1 ppm = 0,0001 %). До відповідних розведень дослідних ПАР додавали стандартизовані суспензії клітин мікроорганізмів у співвідношенні 9 : 1, після чого визначали оптичну щільність, застосовуючи денситометр Den-1 (Biosan, Латвія). Позитивним контролем слугувало рідке середовище МПБ, у якому вирощували тест-культури мікроорганізмів без додавання ПАР, а негативним – живильне середовище до інюкації тест-культурами мікроорганізмів. Результати враховували, вимірюючи оптичну щільність культуральної рідини через 24–48 годин культивування тест-культур за температури 37 °С та визначаючи кількість клітин, що вижили після впливу дослідних ПАР, в оптичних одиницях Мак-Фарланда. Після цього показники екстинції переводили в кількість клітин в 1 мл середовища, застосовуючи стандартну шкалу Мак-Фарланда [13,14,16]. Мінімальною інгібувальною концентрацією (МІК) вважали ту найменшу концентрацію дослідної сполуки, за якої спостерігалось абсолютне пригнічення росту тест-культур мікроорганізмів [17].

Всі експерименти проводили в 3–10 незалежних повторах (n), з яких по 3 паралельних кожен, отримуючи з оброблених даних

середньоарифметичні значення. Потім дані перевіряли на нормальність розподілу, після чого для статистичної обробки результатів застосовували відповідні критерії [18,19].

Результати та обговорення

У зв'язку з обмеженими можливостями синтезу хімічних сполук, які надалі можна використовувати для створення дезінфікувальних засобів широкого антимікробного спектра, дуже часто застосовують методичний підхід, коли дію основного біоцидного компонента підсилюють шляхом введення інших хімічних агентів, отримуючи комбіновану дію на мікробні клітини. Водночас таке ефективне комбінування синтетичних ПАР різних класів потребує детального вивчення їхніх антимікробних властивостей.

Зважаючи на таку потребу, у роботі вивчали антимікробну активність гуанідинвмісного олігомеру (ГВО) та інших синтетичних ПАР для з'ясування можливості подальшого застосування для створення біоцидних композицій щодо окремих представників грамположитивних (*Staphylococcus aureus* ССМ 209) і грамнегативних (*Escherichia coli* BE та *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100) бактерій, а також одноклітинних мікроскопічних грибів *Candida albicans* УКМУ-690. У результаті проведених досліджень було встановлено високу біоцидну активність ГВО щодо досліджених грамположитивних і грамнегативних тест-культур бактерій, а також грибів роду *Candida*. Отримані нами дані (табл. 1) засвідчують, що гуанідинвмісний олігомер за концентрації від 1000 до 100 ppm повністю пригнічував ріст клітин усіх без винятку тест-культур. Певні штамові відмінності спостерігалися за впливу ГВО за концентрації 10 ppm. Зокрема, найчутливішими серед усіх досліджених виявилися клітини штаму *S. aureus* ССМ 209. Зокрема, за вказаної концентрації

відбувалося пригнічення росту клітин стафілококів на 92,3 %, і відновлювався він лише за концентрації 0,1 ppm.

Більш стійкими до впливу гуанідинвмісного олігомеру були грамнегативні бактерії, хоча й у цьому випадку спостерігалися міжвидові та штамові відмінності (табл. 1). Наприклад, за концентрації 10 ppm ріст клітин штаму *E. coli* BE практично відновлювався до показників позитивного контролю. Натомість у штаму *S. typhimurium* TA98 порівняно з контролем життєздатними залишалися 7,8 % клітин, тоді як у штаму *S. typhimurium* TA100 реєстрували стовідсоткове пригнічення росту культури. Слід зазначити, що, як і у випадку стафілококів, ріст усіх без винятку грамнегативних бактерій також відновлювався за концентрації 0,1 ppm. Окрім того, було з'ясовано, що дослідженому олігомеру притаманна фунгіцидна активність, оскільки він виявляв здатність повністю пригнічувати ріст грибів *Candida albicans* за концентрацій 1000 і 100 ppm. За зниження концентрації ГВО до 10 ppm та менше ефект пригнічення життєздатності клітин еукаріотичних клітин зменшувався, як і у випадку клітин бактерій. Зокрема, кількість життєздатних клітин за дії гуанідинвмісного олігомеру концентрацією 10 ppm становила $0,6 \cdot 10^6$ клітин/мл, що значно менше порівняно з контролем ($1,04 \cdot 10^7$ клітин/мл). Натомість за концентрації 1 ppm ріст клітин *Candida albicans* поступово відновлювався (кількість життєздатних клітин становила 80,8 %) та сягав значень контрольних показників за концентрації 0,1 ppm.

Слід зазначити, що однією з обов'язкових характеристик під час створення дезінфектантів та антисептиків є термін зберігання засобу, упродовж якого речовини, що входять до його складу, зберігають свої антимікробні властивості [1]. З урахуванням цих вимог ми дослідили біоцидну активність гуанідинвмісного олігомеру після 6-місячного зберігання в розчині за кімнатної

Таблиця 1. Антимікробна активність гуанідинвмісного олігомеру щодо тест-культур мікроорганізмів

Тест-культура (рід, вид, штам)	Концентрація клітин мікроорганізмів					
	Контроль (МПБ + культура)	Кінцева концентрація сполуки в розчині (ppm)				
		1000	100	10	1	0,1
<i>Staphylococcus aureus</i> ССМ 209*	8,7	0	0	0	0,6	11,4
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98*	7,7	0	0	0,6	9,6	12,0
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100*	5,1	0	0	0	10,5	12,6
<i>Escherichia coli</i> BE*	15,6	0	0	15,0	18,6	19,2
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	0	0	0,6	8,4	10,8

Примітки:

* – концентрація клітин тест-культур бактерій 10^8 /мл;

** – концентрація клітин мікроскопічних одноклітинних грибів 10^6 /мл;

0 – абсолютне пригнічення росту клітин тест-культур.

Таблиця 2. Антимікробна активність гуанідинвмісного олігомеру щодо тест-культур мікроорганізмів після зберігання упродовж 6 місяців

Тест-культура (рід, вид, штам)	Концентрація клітин мікроорганізмів					
	Контроль (МПБ + культура)	Кінцева концентрація сполуки в розчині (ppm)				
		1000	100	10	1	0,1
<i>Staphylococcus aureus</i> ССМ 209*	8,7	0	0	0,2	7,3	7,9
<i>Salmonella typhimurium</i> ТА98*	7,7	0	0	0,4	4,7	5,4
<i>Salmonella typhimurium</i> ТА100*	5,1	0	0	1,2	3,8	3,8
<i>Escherichia coli</i> BE*	15,6	0	0	9,1	15,3	15,7
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	0	0	1,0	10,5	11,0

Примітки:

* – концентрація клітин тест-культур бактерій 10^8 /мл;

** – концентрація клітин мікроскопічних одноклітинних грибів 10^6 /мл;

0 – абсолютне пригнічення росту клітин тест-культур.

температури. Встановлено, що загалом антимікробний спектр і значення дієвих концентрацій цієї ПАР залишилися практично без змін (табл. 2), тобто найбільш дієвими щодо всіх протестованих культур були концентрації 1000 і 100 ppm.

Отримані нами дані стосовно антимікробної активності гуанідинвмісного олігомеру узгоджуються з результатами інших авторів, відповідно до яких вказана ПАР також виявляла здатність пригнічувати ріст клітин інших штамів грам-позитивних (*S. aureus* 451) і грам-негативних (*E. coli* 475, *P. aeruginosa* 465, *Klebsiella pneumoniae* 479) бактерій, а також мікроскопічних міцеліальних грибів – представників родів *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Acremonium* та ін. [7].

Як додаткові хімічні агенти, що потенційно можуть бути використані під час створення антимікробних композицій, у роботі також досліджували низку ПАР, які відрізнялися між собою хімічною будовою, фізико-хімічними характеристиками та антимікробною активністю. Наприклад, альдегіди (глутаровий альдегід та ін.) вважають речовинами з антимікробною активністю щодо представників різних видів мікроорганізмів. Механізм їхньої дії реалізується

внаслідок алкілування аміно- і сульфгідрильних груп білків і пригнічення синтезу останніх [1,3,12]. У результаті проведених досліджень встановлено, що глутаровий альдегід повністю пригнічував ріст усіх без винятку тест-культур за концентрації 5000 ppm (тобто 0,5 %), хоча у відомих нині дезінфікувальних засобах переважно рекомендовано до застосування набагато вищі концентрації – здебільшого 2 % розчин. Також ми показали, що за концентрації 500 ppm і менше пригнічувальний ефект був незначним або його взагалі не було (табл. 3). Зокрема, концентрації ГА від 500 ppm і менше виявилися не дієвими щодо тест-культур грамнегативних бактерій та грибів роду *Candida*. Найбільш чутливим серед усіх досліджених культур до дії глутарового альдегіду виявився штам *S. aureus* ССМ 209, оскільки за концентрації 500 ppm кількість клітин стафілококів порівняно з контролем зменшувалась у 2,4 раза.

Під час створення нових засобів також варто враховувати й те, що підвищення концентрації робочих розчинів сурфактантів є обмеженим, оскільки не дозволяє розширювати спектр їхньої антимікробної активності внаслідок міцелоутворення [1,4]. До того ж четвертинним амонійним

Таблиця 3. Антимікробна активність глутарового альдегіду щодо тест-культур мікроорганізмів

Тест-культура (рід, вид, штам)	Концентрація клітин					
	Контроль (МПБ + культура)	Кінцева концентрація ГА в розчині (ppm)				
		5000	500	50	5	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ССМ 209*	8,7	0	3,6	10,8	11,1	12,3
<i>Salmonella typhimurium</i> ТА98*	7,7	0	9,6	9,9	10,3	10,8
<i>Salmonella typhimurium</i> ТА100*	5,1	0	6,6	7,5	8,1	8,4
<i>Escherichia coli</i> BE*	15,6	0	19,2	20,4	20,7	21,3
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	0	12,3	12,9	15,3	17,1

Примітки:

* – концентрація клітин тест-культур бактерій 10^8 /мл;

** – концентрація клітин мікроскопічних одноклітинних грибів 10^6 /мл;

0 – абсолютне пригнічення росту клітин тест-культур.

сполукам, наприклад, притаманний негативний мийний ефект: вони фіксують забруднення на поверхнях, що обробляються, шляхом утворення моно- та багаточарових плівок [2,4]. Зазначені недоліки можна усунути завдяки введенню до складу дезінфікувальних засобів різних типів ПАР (аніонних, катіонних чи неіоногенних). Такий підхід дає змогу суттєво поліпшити споживчі характеристики засобів, хоча, з іншого боку, це може позначитися на кінцевій вартості продукту та його екологічній безпеці.

У результаті дослідження антимікробного спектра традиційних і новосинтезованих ПАР різних груп (катіонних, аніонних, неіоногенних) встановлено, що катіонні поверхнево-активні речовини, а саме новосинтезована ПАР 1 і триетаноламін (ТЕА), характеризувалися доволі низькою пригнічувальною активністю щодо досліджених клітин як прокаріотичних, так і еукаріотичних тест-культур (табл. 4).

Дані, наведені в табл. 4, свідчать про те, що дія жодної з катіонних ПАР у досліджених концентраціях (1000–0,1 ppm) не призводила до стовідсоткового інгібування росту тест-культур, хоча й спостерігався незначний пригнічувальний ефект обох досліджених ПАР (здебільшого за концентрації 1000 і 100 ppm). Зокрема, за впливу ПАР 1 на штам *S. aureus* ССМ 209 за вказаних вище концентрацій кількість життєздатних клітин зменшувалась на 20,7 і 17,2 %, а за дії триетаноламіну – 24,1 і 20,7 %, відповідно. Більш чутливими до досліджених катіонних ПАР виявилися грамнегативні бактерії, оскільки кількість загиблих клітин за концентрації ПАР 1 і ТЕА 1000 ppm залежно

від видової належності штамів коливалась у представників виду *Salmonella typhimurium* у межах 29,9–35,3 % і 29,5–29,9 %, відповідно, та 42,4 і 40,4 % – у штаму *Escherichia coli* ВЕ. Окрім того, обидві катіонні ПАР виявляли також незначну фунгіцидну активність щодо штаму *Candida albicans* УКМУ-690: кількість загиблих клітин за дії ПАР 1 і ТЕА становила відповідно 25 % і 45,2 %. Отже, антимікробна активність згаданих катіонних ПАР є недостатньо ефективною, щоб застосовувати їх як базові сполуки, проте цілком достатньою для того, щоб бути введеними в новостворювані антимікробні композиції для підсилення дії основного діючого компонента.

Під час дослідження антимікробної активності неіоногенних ПАР (а саме ОП-10 і тритону Х-100), які можуть бути введені до складу дезінфікувальних засобів для поліпшення мийних властивостей останніх, встановлено, що жодна з них у досліджених концентраціях (1000–0,1 ppm) подібно до катіонних ПАР не пригнічувала істотно ріст тест-культур мікроорганізмів. Як і у випадку інших досліджених ПАР, найдієвішою була концентрація 1000 ppm (табл. 5). Зокрема, за впливу ОП-10 кількість життєздатних клітин грамнегативних бактерій – штамів *S. typhimurium* ТА98 і ТА100 зменшувалась в 1,3–1,4 раза, а представників виду *E. coli* ВЕ та грампозитивних бактерій *S. aureus* ССМ 209 – у 2,3–2,4 раза, відповідно. Окрім того, ОП-10 виявляла незначний фунгіцидний ефект щодо штаму *C. albicans* УКМУ-690. Практично подібна антимікробна активність була притаманна і тритону Х-100 (табл. 5).

Таблиця 4. Антимікробна активність катіонних ПАР щодо тест-культур мікроорганізмів

Тест-культура (рід, вид, штам)	Концентрація клітин					
	Контроль (МПБ + культура)	Кінцева концентрація ПАР у розчині (ppm)				
		1000	100	10	1	0,1
	триетаноламін					
<i>Staphylococcus aureus</i> ССМ 209*	8,7	6,6	6,9	6,0	6,9	7,5
<i>Salmonella typhimurium</i> ТА98*	7,7	5,4	5,4	5,4	5,7	5,7
<i>Salmonella typhimurium</i> ТА100*	5,1	3,6	3,9	4,2	4,2	4,2
<i>Escherichia coli</i> ВЕ*	15,6	9,3	10,2	10,2	10,8	13,2
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	5,7	6,9	7,5	8,4	10,2
	ПАР 1					
<i>Staphylococcus aureus</i> ССМ 209*	8,7	6,9	7,2	7,2	7,8	7,8
<i>Salmonella typhimurium</i> ТА98*	7,7	5,4	5,7	6,0	6,0	6,0
<i>Salmonella typhimurium</i> ТА100*	5,1	3,3	3,3	3,3	4,2	4,2
<i>Escherichia coli</i> ВЕ*	15,6	9,0	9,0	9,3	9,6	12,3
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	7,8	8,4	8,9	9,3	10,4

Примітки:

* – концентрація клітин тест-культур бактерій 10⁸/мл;

** – концентрація клітин мікроскопічних одноклітинних грибів 10⁶/мл.

Таблиця 5. Антимікробна активність неіоногенних ПАР щодо тест-культур мікроорганізмів

Тест-культура (рід, вид, штам)	Концентрація клітин					
	Контроль (МПБ + культура)	Кінцева концентрація ПАР у розчині (ppm)				
		1000	100	10	1	0,1
	ОП-10					
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 209*	8,7	3,6	4,8	5,1	7,8	8,1
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98*	7,7	6,0	8,1	8,7	8,7	9,9
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100*	5,1	3,6	6,6	7,8	12,0	13,8
<i>Escherichia coli</i> BE*	15,6	6,9	7,5	11,1	11,7	15,9
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	6,6	6,9	9,6	9,6	13,5
	трилон X-100					
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 209*	8,7	3,6	5,1	7,5	8,1	8,7
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98*	7,7	2,1	5,7	6,0	6,0	8,1
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100*	5,1	4,5	6,0	6,0	6,6	6,6
<i>Escherichia coli</i> BE*	15,6	6,3	9,9	12,6	14,7	18,9
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	6,9	7,5	7,8	7,8	8,4

Примітки:

* – концентрація клітин тест-культур бактерій 10^8 /мл;

** – концентрація клітин мікроскопічних одноклітинних грибів 10^6 /мл.

Під час вивчення впливу аніонних ПАР було встановлено, що вони виявляли щодо грамнегативних і грампозитивних бактерій, а також грибів роду *Candida* різну біоцидну активність. Було показано, що трилон Б за концентрації 1000 ppm повністю пригнічував ріст усіх без винятку тест-культур мікроорганізмів, зокрема й грибів *Candida albicans* (табл. 6), тобто мав як антибактеріальну, так і фунгіцидну активність. За впливу ПАР 2 за тієї самої концентрації

спостерігали 100 % інгібування клітин штамів *S. aureus* CCM 209 і *S. typhimurium* TA98. Кількість життєздатних клітин штаму *S. typhimurium* TA100 порівняно з контролем становила всього 3,9 %, тоді як *E. coli* BE – 17,3 %. Натомість найменш активною серед аніонних ПАР виявилася сполука ПАР 3 (табл. 6). За зменшення концентрації ПАР (від 100 ppm і менше) відбувалося поступове зниження біоцидного ефекту щодо всіх досліджених культур. І за найнижчих

Таблиця 6. Антимікробна активність аніонних ПАР щодо тест-культур мікроорганізмів

Тест-культура (рід, вид, штам)	Концентрація клітин					
	Контроль (МПБ + культура)	Кінцева концентрація ПАР у розчині (ppm)				
		1000	100	10	1	0,1
	ПАР 2					
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 209*	8,7	0	6,6	6,9	6,9	7,5
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98*	7,7	0	3,9	4,8	5,1	5,4
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100*	5,1	0,2	4,2	4,5	4,5	4,8
<i>Escherichia coli</i> BE*	15,6	2,7	7,8	9,9	10,2	10,2
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	7,5	8,7	9,3	9,6	9,9
	ПАР 3					
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 209*	8,7	3,0	6,9	7,8	7,8	8,7
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98*	7,7	1,5	4,2	5,4	6,0	6,0
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100*	5,1	1,2	3,3	4,2	4,2	4,2
<i>Escherichia coli</i> BE*	15,6	15,0	14,7	15,9	16,2	16,5
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	3,9	7,8	10,2	10,5	11,1
	трилон Б					
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 209*	8,7	0	0,3	8,1	7,8	8,1
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98*	7,7	0	1,6	2,7	3,3	4,5
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100*	5,1	0	2,4	4,2	4,2	4,2
<i>Escherichia coli</i> BE*	15,6	0	1,8	12,0	13,5	13,5
<i>Candida albicans</i> УКМУ-690**	10,4	0	1,5	8,7	9,9	9,9

Примітки:

* – концентрація клітин тест-культур бактерій 10^8 /мл;

** – концентрація клітин мікроскопічних одноклітинних грибів 10^6 /мл;

0 – абсолютне пригнічення росту клітин тест-культур.

досліджених концентрацій (1,0 та 0,1 ppm) ми спостерігали практично повне відновлення життєздатності як клітин бактерій, так і грибів *Candida albicans*. Підсумовуючи, маємо зазначити, що всім дослідженим аніонним ПАР (новосинтезованим і трилону Б) був притаманний доволі виражений як антибактеріальний, так і фунгіцидний ефект за найвищої серед досліджених концентрацій. Тому надалі ці аніонні ПАР цілком можна застосовувати як додаткові під час створення антимікробних композицій.

Висновки

Отже, на підставі отриманих нами експериментальних даних розширено спектр про- та еукаріотичних культур мікроорганізмів, щодо яких може здійснювати антимікробний вплив гуанідинвмісний олігомер [7]. Окрім того, було встановлено, що антимікробна активність цієї ПАР практично не знижувалася після 6-місячного зберігання в розчині за кімнатної температури, а антимікробний спектр і дієві концентрації сурфактанта залишилися без змін. Тобто наші дані й результати інших авторів [7] дають підстави вважати гуанідинвмісний олігомер перспективною сполукою, яку можна використовувати для створення антимікробних засобів широкого спектра дії. На користь перспективності

застосування цієї ПАР як базової сполуки під час створення нових дезінфектантів свідчить широкий спектр антимікробної дії, стійкість під час зберігання, відсутність запаху та відносна простота синтезу.

Під час створення дезінфікувальних засобів підсилення біоцидного ефекту може бути реалізовано завдяки введенню в композицію аніонних детергентів. Як трилон Б, так і новосинтезовані ПАР 2 і ПАР 3 доволі активно пригнічували ріст тест-культур бактерій та одноклітинних мікроскопічних грибів. У разі потреби глутаровий альдегід може бути введений у новостворювані засоби для стабілізації чи підсилення антимікробної активності останніх, але його ефективність істотно залежатиме від кінцевих концентрацій у засобі. Обидві досліджені неіоногенні ПАР (тритон X-100 та ОП-10) також можуть бути використані як додаткові компоненти під час створення антимікробних композицій для поліпшення мийних властивостей та підвищення загальної антимікробної активності новостворюваного засобу. Натомість такі катіонні ПАР, як новосинтезована ПАР 1 і триетаноламін, недоцільно використовувати під час створення антимікробних композицій, оскільки вони характеризувалися доволі низькою біоцидною активністю щодо грамнегативних і грампозитивних бактерій та грибів *Candida albicans*.

References

1. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12(1):147–79.
2. Bureš F. Quaternary ammonium compounds: simple in structure, complex in application. *Topic in Current Chemistry*. 2019;377(14):1–21. DOI: 10.1007/s41061-019-0239-2
3. Sehmi SK, Allan E, MacRobert AJ, Parkin I. The bactericidal activity of glutaraldehyde-impregnated polyurethane. *MicrobiologyOpen*. 2016;5(5):891–7. DOI: 10.1002/mbo3.378
4. Falk NA. Surfactants as antimicrobials: a brief overview of microbial interfacial chemistry and surfactant antimicrobial activity. *Journal of Surfactants and Detergents*. 2019;22(5):1119–27. DOI: 10.1002/jsde.12293
5. Zhou C, Wang Y. Structure–activity relationship of cationic surfactants as antimicrobial agents. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2020;45:28–43. DOI: 10.1016/j.cocis.2019.11.009
6. Ahmady AR, Hosseinzadeh P, Solouk A, Akbari S, Szulc AM, Brycki BE. Cationic gemini surfactant properties, its potential as a promising bioapplication candidate, and strategies for improving its biocompatibility: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2022;299:102581. DOI: 10.1016/j.cis.2021.102581
7. Vortman MYa, Pysmenna YuB, Rudenko AV, Tretyak VV, Lemeshko VN, Shevchenko VV. Fungicidal and bactericidal activity of alkyl-substituted polyetherguanidines. *Biologichni Studii / Studia Biologica*. 2020;14(3):65–78. DOI: 10.30970/sbi.1403.630
8. Al-Sabagh AM, Elsabee M, Khaled K, Eltabie AE. Synthesis of some surfactants based on polytriethanolamine and investigation of their surface active properties. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2010;31(10):1335–43. DOI: 10.1080/01932690903227584
9. Samanta A, Ojha K, Sarkar A, Mandal A. Synthesis and characterization of triethanolamine derivative of sodium dodecyl sulphate and its use in enhanced oil recovery. *Journal of Petroleum Engineering & Technology*. 2011;1(2):1–8.
10. Blaedel WJ, Knight HT. Purification and properties of disodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid as primary standard. *Analytical Chemistry*. 1954;26(4):741–3. DOI: 10.1021/ac60088a040
11. Robson RJ, Dennis EA. The size, shape, and hydration of nonionic surfactant micelles. Triton X-100. *The Journal of Physical Chemistry*. 1977;81(11):1075–78. DOI: 10.1021/j100526a010
12. Leronés C, Mariscal A, Carnero M, García-Rodríguez A, Fernández-Crehuet J. Assessing the residual antibacterial activity of clinical materials disinfected with glutaraldehyde, *o*-phthalaldehyde, hydrogen peroxide or 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol by means of a bacterial toxicity assay. *Clinical Microbiology and Infection*. 2004;10(11):984–9. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2004.00967.x
13. McFarland J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*. 1907;XLIX(14):1176–78. DOI: 10.1001/jama.1907.25320140022001f
14. Bollela VR, Sato DN, Fonseca BAL. McFarland nephelometer as a simple method to estimate the sensitivity of the polymerase chain reaction using *Mycobacterium tuberculosis* as a research

- tool. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 1999;32(9):1073–76. DOI: 10.1590/S0100-879X1999000900003
15. Wiegand I, Hilpert K, Hancock REW. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nature Protocols. 2008;3(2):163–75. DOI: 10.1038/nprot.2007.521
 16. Reybrouck G. The testing of disinfectants. International Biodeterioration & Biodegradation. 1998;41(3-4):269–72. DOI: 10.1016/S0964-8305(98)00024-9
 17. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. Journal Antimicrobial Chemotherapy. 2001;48(Suppl S1):5–16. DOI: 10.1093/jac/48.suppl_1.5
 18. Sacks ST, Glantz SA. Introduction to biostatistics – an annotated bibliography for medical researchers. Western Journal of Medicine. 1983;139(5):723–9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1010993/pdf/westjmed00195-0127.pdf>
 19. Glantz SA. Primer of Biostatistics. 7th ed. The McGraw-Hill Companies; 2012. 327 p.

I. Furtat, O. Nechypurenko, P. Vakuliuk, M. Vortman, V. Shevchenko

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF TRADITIONAL AND NEWLY SYNTHETIZED SURFACE-ACTIVE AGENTS AS A BASIS FOR THE CREATION OF NEW DISINFECTANTS

Aim. The main goal of the study was to investigate the antibacterial and fungicidal properties of the traditional and newly synthesized surfactants of different classes, compare the analysis of their antimicrobial activity and find out the prospects for further use for the creation of disinfectants. **Methods.** The biocidal activity of the studied cationic, anionic and nonionic surfactants was determined in relation to representatives of the species *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, as well as fungi *Candida albicans*. The detection of antibacterial and fungicidal effect and determination of minimum inhibitory concentrations (MIC) was carried out by cultivation of the test cultures of microorganisms in Nutrient Broth (NB, Himedia, India) for 24–48 hours at 37 °C in the presence of different concentrations of experimental surfactants (1000–0.1 ppm). The number of cells that remained viable after exposure to surfactants was determined by optical density in McFarland units, which were then converted to the number of cells in 1 ml using the standard McFarland scale. **Results.** The newly synthesized guanidine-containing oligomer at concentrations of 1000 and 100 ppm inhibited the growth of all test cultures without exception by 100 %. The biocidal effect on the representatives of various taxonomic groups of microorganisms differed in its effectiveness for various anionic surfactants (trilon B, surfactant 2 and surfactant 3) even at the highest concentration of 1000 ppm. In particular, only trilon B completely inhibited the growth of all test cultures. However, at the concentrations indicated above, the examined cationic (surfactant 1 and triethanolamine) and nonionic (OP-10 and triton X-100) exhibited a rather low antimicrobial activity. **Conclusions.** The results obtained indicate that the guanidine-containing oligomer exhibited the highest antimicrobial activity among the investigated surfactants. Therefore, it can be considered a promising surfactant for further use in the creation of broad-spectrum antimicrobial agents. Enhancement of the biocidal effect of newly created disinfectants can be implemented by introducing the studied anionic and nonionic detergents, and glutaraldehyde can be used to stabilize them or enhance their antimicrobial activity. Instead, the application of cationic surfactants used in the work is impractical.

Keywords: anionic, cationic, nonionic surfactants, antibacterial activity, fungicidal activity, disinfectants.

Матеріал надійшов 20.06.2022



Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)