

УДК 579.66/579.222

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА РОСТ И ПРОДУКЦИЮ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДА ОБЛИГАТНОЙ МЕТИЛОТРОФНОЙ БАКТЕРИИ *Methylophilus quaylei*

© 2012 г. С. А. М. Отман, А. Б. Пшеничникова, В. И. Швец

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, Москва, 117571

e-mail: a_pshenichnikova@mail.ru

Поступила в редакцию 15.09.2011

Обнаружен эффект ускорения роста и увеличения продукции экзополисахарида облигатной метилотрофной бактерии *Methylophilus quaylei* в присутствии жирных кислот C_{12} – C_{18} , добавленных в питательные среды. Наилучшим ростовым фактором оказался олеат натрия. На основании данных о составе фракции свободных жирных кислот в клетках, величин ζ -потенциала и анизотропии флуоресценции целых клеток высказано предположение о включении жирных кислот в состав наружной мембраны бактерии *M. quaylei*.

Жирные кислоты (ЖК) с длиной цепи от C_{14} до C_{20} представляют собой уникальные природные вещества, которые в виде производных липидов являются структурными компонентами клеточных мембран, выполняют энергетические и регуляторные функции. Кроме этого свободные жирные кислоты проявляют разнообразную биологическую активность и прежде всего антимикробную (активны против вирусов, бактерий, грибов, водорослей, простейших) и цитотоксическую [1, 2]. Бактерицидное действие свободных ЖК наблюдали как по отношению к грамположительным бактериям родов: *Streptococcus* [3–5], *Staphylococcus* [6–9], *Bacillus* [9, 10], *Lactobacillus* [11], *Mycobacterium* [12, 13] и других [1, 14], так и грамотрицательным, родов: *Escherichia* [9, 15, 16], *Pseudomonas* [17], *Neisseria* [17], *Salmonella* [16, 17], *Helicobacter* [18, 19] и других [1, 14]. Как правило, грамположительные бактерии более чувствительны к ЖК, чем грамотрицательные, которые защищены липополисахаридом внешней мембраны [16]. Несмотря на свое бактерицидное действие, свободные ЖК были обнаружены в составе внеклеточных метаболитов бактерий *Pseudomonas carboxydoflava* [20], *Bacillus cereus* [21], *Methylococcus capsulatus* [22]. Добавленные экзогенно олеиновая или пальмитолеиновая кислоты в низких концентрациях (менее 4 мг/л) способствовали сокращению лаг-фазы и ускорили рост метанотрофной бактерии *M. capsulatus*, а в более высоких концентрациях вызывали лизис культуры [22]. Авторы предположили, что ЖК выполняют регуляторную функцию по поддержанию жидкостности клеточных мембран.

Несмотря на большой научный интерес к биологическим функциям свободных ЖК, механизм их бактерицидной активности изучен недостаточно. Известно, что основной мишенью являет-

ся клеточная мембрана и процессы в ней протекающие – функционирование электронтранспортной цепи, окислительное фосфорилирование, ферментативные процессы, транспорт питательных веществ, перекисное окисление липидов [2]. Свободные ЖК являются компонентами врожденного иммунитета и присутствуют на коже, в грудном молоке и кровотоке человека и животных [23], где выполняют защитные функции. Наиболее детально изучена активность ЖК, особенно олеиновой кислоты (ОК), по отношению к бактериям родов *Staphylococcus* и *Streptococcus* – наиболее распространенных возбудителей инфекций кожи и других органов человека [3–8]. В концентрациях, не вызывающих цитотоксического действия, ОК разрушает клеточные стенки и приводит к гибели популяции *Staphylococcus aureus* [7]. По мнению авторов [7, 8], в качестве антимикробных веществ ЖК являются альтернативой традиционным антибиотикам, применение которых часто приводит к формированию лекарственной устойчивости у патогенных бактерий. Использование ЖК предлагается авторами [7, 8] в качестве элемента новой антимикробной стратегии, основанной на свойствах врожденного неспецифического иммунитета. Показано, что бактерицидная активность ОК по отношению *S. aureus* возрастает в составе липосом [8].

В рассматриваемом контексте важно отметить, что экзогенно добавленные в среду для культивирования бактерий ЖК не всегда ингибируют их рост, при определенных концентрациях наблюдается и ускорение роста, повышение выживаемости некоторых бактерий в неблагоприятных условиях, например для лактобацилл, при дефиците биотина, или в условиях, моделирующих кислую среду желудка [1, 22, 24]. Важнейший представи-

тель биоценоза вина — молочнокислая бактерия *Oenococcus oeni* в присутствии экзогенной ОК обладала повышенной выживаемостью в присутствии этанола [25]. Более того, ЖК являются необходимыми ростовыми факторами для некоторых бактерий, относящихся к таким родам, как *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Clostridium* [26, 27]. В присутствии экзогенной ОК повышалась продукция поли-3-гидроксибутирата грамотрицательными бактериями *Sphaerotilus natans* и *Pseudomonas* sp. [28].

Бактерицидный или ростостимулирующий эффект ЖК определяется их строением (особенно важно количество, а иногда и положение двойных связей), видом бактерии, концентрацией кислоты и условиями культивирования [1, 26]. Таким образом, при разработке бактерицидных препаратов на основе ЖК необходимо учитывать сложный механизм их биологического действия и состав биоценоза, подвергающегося обработке препаратом. Например, в составе биоценоза кожи здоровых людей, помимо хорошо известных бактерий, таких, как *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes* и других, обнаружены облигатные метилотрофные бактерии *Methylophilus methylotrophus* [29]. Нами были исследованы внеклеточные нейтральные липиды другого представителя рода *Methylophilus* — облигатной метилотрофной бактерии *Methylophilus quaylei* и обнаружены свободные ЖК миристиновая, пальмитиновая и стеариновая, а в условиях осмотического стресса еще и пальмитолеиновая, олеиновая и линолевая [30]. Добавление в питательную среду свободных ЖК увеличивало выход биомассы и экзополисахарида, а также — выживаемость бактерий *M. quaylei* в условиях стресса. Следовательно, воздействие препаратов ЖК на биоценоз, например кожи, включающий организмы, по-разному с ними взаимодействующие, может привести к труднопрогнозируемым эффектам.

Цель работы — изучение механизма взаимодействия экзогенных ЖК с облигатными метилотрофными бактериями *M. quaylei*.

МЕТОДИКА

В работе использовали облигатные метилотрофные бактерии *Methylophilus quaylei*, штамм МТ (ВКМ В-2338^T), выделенный нами из утилизирующей метанол смешанной культуры [31]. Для культивирования использовали минеральную среду, содержащую 1.0 об. % метанола [32]. Для получения плотных питательных сред добавляли 1.5% агара. Жирные кислоты добавляли в стерильную питательную среду в виде метанольных растворов асептически после пропускания через мембранные фильтры 0.22 мкм Millipore[®] GS, (“Millipore”, Ирландия).

Для приготовления питательных сред использовали реактивы Российского производства марки х.ч. Органические растворители предварительно перегоняли.

ЖК лауриновую, миристиновую, пальмитиновую, стеариновую (х.ч., “Реахим”, Россия) предварительно перекристаллизовывали из метанола. Примеси насыщенных жирных кислот в коммерческой ОК (ч., “Химмед”, Россия) удаляли при температуре -18°C осаждением из ацетона. ОК выделяли в виде комплекса с мочевиной, как описано [33]. Линолевую кислоту (99%-ная, фирмы “Aldrich”, США) и олеат натрия (“Sigma”, США) использовали без предварительной очистки.

Бактерии выращивали в колбах объемом 250 мл (100 мл среды) на шейкере (“Labline”, США) при 100 об/мин и 28°C . В качестве инокулята использовали 28-часовую культуру в экспоненциальной фазе роста в количестве 2.5 об. %. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре (“Beckman DU-7”, США), при $\lambda = 600$ нм, в кювете $l = 10$ мм. Концентрацию экзополисахарида (ЭПС) определяли фенольным методом [34].

Добавки вносили в начальный момент времени в виде метанольного раствора. Для определения скорости роста и построения кинетических кривых находили зависимость концентрации высушенной биомассы (ВБ) от времени. Концентрацию ВБ определяли по калибровочной зависимости $Y = 0.915X - 0.152$, где Y — концентрация биомассы, высушенной до постоянного веса, г/л, X — оптическая плотность при $\lambda = 600$ нм. Для получения биомассы культуральную жидкость центрифугировали (центрифуга ОПн-8УХЛ4.2, “Поликом”, Россия) при 10000 г 20 мин.

Липиды экстрагировали по методу Блайя–Дайэра [35]. Экстракты фракционировали на колонке размером 0.8×24 см с 0.2–0.5 мм силикагелем 60 (“Merck”, Германия). Элюцию проводили хлороформом, собирая фракцию свободных ЖК аналогично, описанному в работе [30].

Для выделения фосфолипидов из фракции суммарных липидов использовали низкотемпературное осаждение. Для этого к 1 мл раствора суммарных липидов в диэтиловом эфире (20–30 мг/мл) добавляли 5 мл ацетона и 0.1 мл 10%-ного водного раствора хлорида магния и выдерживали при -20°C [36]. Метиловые эфиры ЖК получали реакцией с ацетилхлоридом (6 об. %) в метаноле [37].

Жирнокислотный состав фракций свободных ЖК и фосфолипидов (ФЛ) определяли методом хромато-масс-спектрометрии. Хромато-масс-спектрометр включал ионную ловушку Finnigan MAT ITD-700 (“Finnigan”, Великобритания) и газовый хроматограф Varian 3400 (“Varian”, США), снабженный капиллярной колонкой “Hewlett-Packard HP-101” (США) длиной 25 м, внутренним диаметром 0.2 мкм и с толщиной слоя непо-

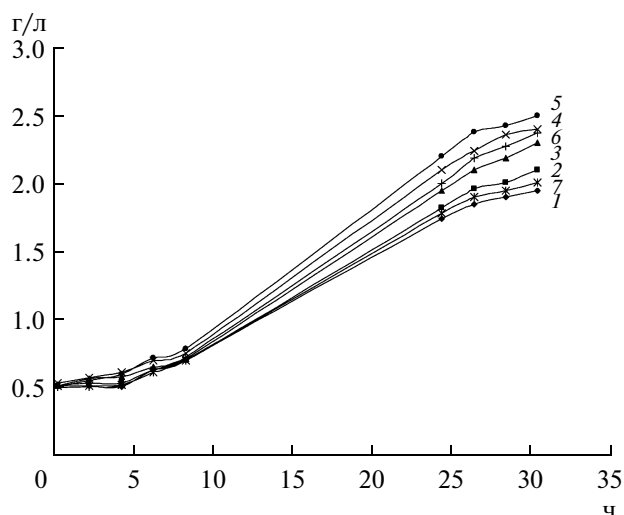


Рис. 1. Влияние длины цепи и степени ненасыщенности экзогенных ЖК на рост *M. quaylei*: 1 – C_{12:0}, 2 – C_{14:0}, 3 – C_{16:0}, 4 – C_{18:0}, 5 – C_{18:1}, 6 – C_{18:2}, 7 – без добавок. Концентрация ЖК 50 мкМ.

движной привитой фазы 0.2 мкм, температура инжектора 250°C, газ-носитель – гелий, 1 мл/мин. Программирование температуры термостата: 80°C – изотерма 1 мин, линейный рост 10°C/мин до 290°C; проба – 1 мкл хлороформа. Ионная ловушка Finnigan MAT ITD-700 была настроена на сканирование в области m/z от 41 до 400, частота сканирования 1 скан/с, задержка регистрации – 100 с, энергия ионизирующих электронов 70 эВ, температура интерфейса 220°C, порог регистрации пиков 1. Программное обеспечение ITDS (“Finnigan MAT”), версия 4.10. Файлы были конвертированы в формат программы HPChem, идентификация веществ проводилась с использованием базы данных Wiley 275.

Спектры ¹H-ЯМР были получены на импульсном Фурье-спектрометре Bruker DPX-300 с рабочей частотой 300 МГц.

Измерение ζ-потенциала интактных клеток бактерий проводили на анализаторе частиц Delsa™ Nano Series Zeta Potential and Submicron Particle Size Analyzers (“Beckman Coulter, Inc.”, США) методом электрофоретического рассеяния под углом 30° по изменению распределения частиц в электрическом поле. Бактерии культивировали 48 ч в стандартных условиях и в присутствии ОК (5.0 × 10⁻⁵ М), фиксировали раствором формальдегида, центрифугировали 10 мин при 10000 g и 4 раза промывали, а затем ресуспендировали в 0.1 М растворе KCl с добавлением KOH, pH 7.0 (15–22 мг ВБ/мл), содержащем 1.0% БСА.

Для измерения анизотропии флуоресценции бактерии культивировали 48 ч в стандартных условиях и в присутствии ОК (5.0 × 10⁻⁵ М), фиксировали раствором формальдегида, центрифугировали 10 мин при 10000 g и 4 раза промывали, а затем ресуспендировали в 0.1 М растворе KCl с добавлением KOH, pH 7.0 (15–22 мг ВБ/мл), содержащем 1.0% БСА.

Смесь инкубировали 1 ч при температуре 28°C, а затем в течение ночи при 4°C, затем клетки центрифугировали 15 мин при 10000 g. Супернатант удаляли, осадок ресуспендировали в 10 мл 50 мМ трис, pH 7.5. Оптическая плотность не превышала 0.1. Анизотропию флуоресценции меченных ДФГ клеток определяли на флуоресцентном спектрофотометре Varian Cary Eclipse (“Walnut Creek”, CA, Австралия), используя длину волны излучения 350 нм с шириной щели 5 нм, длину волны испускания – 452 нм с шириной щели 10 нм.

ТСХ проводили в системе: петролейный эфир–диэтиловый эфир 9 : 1 об./об. на пластинках ПТСХ-АФ-А-УФ (“Sorbfil”, Россия). Для проявления хроматограмм использовали фосфорномолибденовую кислоту и молибденовый синий [38, 39]. Для колоночной хроматографии использовали 0.2–0.5 мм силикагель 60 (“Merck”, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бактерия *Methylophilus quaylei* не способна утилизировать в качестве источника углерода органические соединения за исключением метанола, т.е. является облигатным метилотрофом и поэтому удобной моделью для изучения влияния экзогенных мембраноактивных веществ.

Жирные кислоты C₁₄–C₂₀ являются амфифильными веществами, в водной среде образуют мицеллы в концентрациях, достигающих значений критической концентрации мицеллообразования (ККМ) – 0.7–3.5 мМ [40]. Известно, что биологическое действие ЖК зависит от формы, в которой они присутствует в водной среде, – мономерной (молекулярной) или мицеллярной. Так, ОК активирует протеинкиназу С (КФ 2.7.11.13) только в мономерной форме [41]. В связи с этим в настоящей работе экзогенные ЖК включали в состав питательной среды в концентрациях как меньших, так и больших значений их ККМ в интервале от 10⁻⁶ до 10⁻³ М. Добавки ЖК вводили в питательную среду в виде растворов в метаноле. Кривые роста *M. quaylei* в присутствии экзогенно добавленных ЖК в концентрации 50 мкМ представлены на рис. 1. В присутствии ЖК C₁₄–C₁₈ наблюдали ускорение роста и сокращение лаг-фазы, причем с увеличением длины цепи способность ЖК стимулировать рост увеличивалась. Наибольший эффект наблюдали в присутствии ОК. При этом наблюдалось наиболее сильное сокращение лаг-фазы.

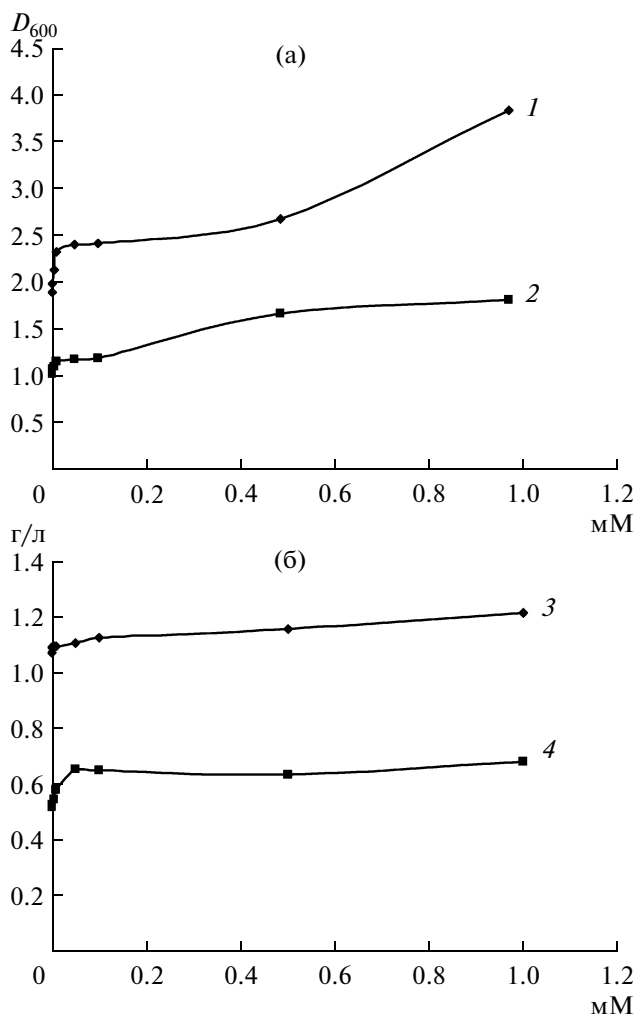


Рис. 2. Влияние экзогенного олеата натрия в культуральной жидкости на рост (а) и продукцию ЭПС (б) *M. quaylei*: D_{600} и концентрация ЭПС при 24 (1, 2) и 48 (3, 4) ч роста соответственно.

Увеличение выхода биомассы в присутствии ОК к 30 ч роста достигало 25%, что позволило ее рассматривать в качестве ростового фактора. Однако для практического использования ОК, имеющая вязкую консистенцию, крайне неудобна, предпочтительнее олеат натрия, хорошо растворяющийся в воде и метаноле. Нами было изучено влияние концентрации олеата натрия на выход биомассы и экзополисахарида *M. quaylei* (рис. 2). Важно отметить, что олеат натрия дозозависимо ускорял выход биомассы и экзополисахарида, однако характер этих зависимостей довольно сложный. Сначала наблюдалось резкое ускорение роста, затем через плато – переход к более медленному росту. Те же закономерности наблюдались для зависимости выхода ЭПС от концентрации олеата натрия (рис. 2). Поскольку питательные среды с олеатом натрия в концентрации выше 0.1 мМ до добавления инокулята были мутными, было изу-

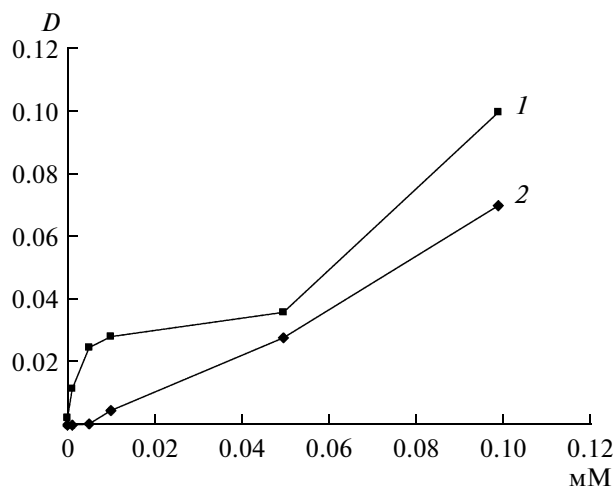


Рис. 3. Влияние концентрации олеата натрия на оптическую плотность питательной среды при $\lambda = 450$ нм (1) и $\lambda = 600$ нм (2).

чено влияние концентрации олеата натрия на оптическую плотность питательных сред (рис. 3). Кривая 1 позволяет предположить наличие как минимум двух критических концентраций, соответствующих образованию различных мицеллярных структур. Но самое интересное – это повторение формы кривых, соответствующих изменению выхода биомассы и ЭПС от концентрации олеата натрия в среде (рис. 1). Чисто арифметический вклад мицелл олеата натрия в светорассеяние культуральной жидкости можно исключить ввиду низких значений оптической плотности при $\lambda = 600$ нм (рис. 3, кривая 2). Возможно, различные мицеллярные структуры с разной эффективностью взаимодействуют с клетками бактерии. Однако этот вывод требует дополнительного подтверждения.

Взаимодействие ЖК с клетками бактерии *M. quaylei* может осуществляться на поверхности или в результате проникновения в наружную мембрану. Нами были выделены и фракционированы клеточные липиды из биомассы, полученной в присутствии ОК и стеариновой кислоты (СК) в концентрации 50 мкМ, а также изучен жирнокислотный состав фракций свободных ЖК и фосфолипидов методом хромато-масс-спектрометрии. При добавлении в питательную среду ОК и СК доля этих ЖК в составе фракций свободных ЖК существенно увеличивалась, тогда как состав фракций ФЛ изменялся незначительно (таблица).

При включении ЖК в состав наружной мембраны, вероятно, должно происходить уменьшение заряда поверхности при нейтральных значениях pH благодаря наличию карбоксильных групп. Действительно, величина ζ -потенциала бактерий, выращенных в стандартных условиях и в присутствии экзогенной ОК (5.0×10^{-5} М), со-

Влияние экзогенных ОК и СК на жирнокислотный состав фракций липидов *M. quaylei*

Добавка	Фракция	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}
Без добавок	Свободные ЖК	2.0	42.3	45.1	7.4	3.2
	ФЛ	—	33.5	66.5	—	—
50 мкмоль/л ОК	Свободные ЖК	—	26.3	17.7	—	56.0
	ФЛ	—	46.8	53.2	—	—
50 мкмоль/л СК	Свободные ЖК	—	14.4	6.9	78.7	—
	ФЛ	—	40.8	40.8	18.4	—

ставила -40.77 и -43.06 мВ соответственно. Промывка клеток буфером, содержащим 1% БСА, связывающего не включившиеся в мембрану ЖК, привела лишь к незначительному снижению ζ -потенциала: -40.09 и -43.01 мВ соответственно. Была проведена оценка текучести мембран целых клеток *M. quaylei* по величинам анизотропии флуоресценции с использованием в качестве гидрофобного зондаДФГ. Значения анизотропии клеток, выращенных в стандартных условиях и в присутствии ОК, составили 0.0111 и 0.0087 соответственно, что коррелирует с повышением текучести мембран в присутствии ОК.

Таким образом, эффект ускорения роста метилотрофной бактерии *M. quaylei* экзогенными ЖК достигался за счет включения их в состав наружной мембраны и изменения физико-химических свойств поверхности клетки, а также свойств липидного бислоя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Nieman C. // *Bacteriol. Rev.* 1954. V. 18. P. 147–163.
- Desbois A.P., Smith V.J. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010. V. 85. № 6. P. 1629–1642.
- Norman P.W., Guy E.M. // *J. Bacteriology.* 1966. V. 91. № 6. P. 2245–2250.
- Speert D.P., Wannamaker L.W., Gray E.D., Clawson C.C. // *Infect Immun.* 1979. V. 26. № 3. P. 1202–1210.
- Carson D.D., Daneo-Moore L. // *J. Bacteriol.* 1980. P. 1122–1126.
- Kenny J.G., Ward D., Josefsson E., Jonsson I.-M., Hinds J., Rees H.H., Lindsay J.A., Tarkowski A., Horsburgh M.J. // *PLoS One*, 2009. V. 4. № 2. e4344.
- Chen C.-H., Wang Y., Nakatsujil T., Liu Y.-T., Zouboulis C.C., Gallol R.L., Zhang L., Hsieh M.-F., Huang C.-M. // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2011. V. 21. № 4. P. 391–399.
- Huang C.M., Chen C.H., Pornpattananangkul D., Zhang L., Chan M., Hsieh M.F., Zhang L.F. // *Biomaterials.* 2011. V. 32. P. 214–221.
- Raychowdhury M.K., Goswami R. // *J. Appl. Microbiol.* 1985. V. 59. № 2. P. 183–188.
- Sheu C.W., Freese E. // *J. Bacteriol.* 1972. V. 111. № 2. P. 516–524.
- Jenkins J.K., Courtney P.D. // *Can. J. Microbiol.* 2003. V. 49. P. 51–57.
- Saito H., Tomioka H., Yoneyama T. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1984. V. 26. № 2. P. 164–169.
- Kondo E., Kanai K. // *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 1977. V. 30. № 4. P. 171–178.
- Kabara J.J., Swieczkowski D.M., Conley A.J., Truant L.P. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1972. V. 2. № 1. P. 23–28.
- Fay J.P., Farias R.N. // *J. Gen. Microbiol.* 1975. V. 91. P. 233–240.
- Sheu C.W., Freese E. // *J. Bacteriology*, 1973. V. 115. № 3. P. 869–875.
- Miller R.D., Brown K.E., Morse S.A. // *Infect. Immun.* 1979. V. 17. № 2. P. 303–312.
- Khulusi S., Ahmed H.A., Patel P., Mendall M.A., Northfield T.C. // *J. Med. Microbiol.* 1995. V. 42. P. 276–282.
- Petschow B.W., Batema R.P., Ford L.L. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1996. V. 40. № 2. P. 302–306.
- Светличный В.А., Романова А.К., Эль-Регистан Г.И. // *Микробиология.* 1986. Т. 55. № 1. С. 55–59.
- Светличный В.А., Эль-Регистан Г.И., Романова А.К., Дуда В.И. // *Микробиология.* 1983. Т. 52. № 1. С. 33–38.
- Бабусенко Е.С., Эль-Регистан Г.И., Градова Н.Б., Козлова А.Н., Осипов Г.А. // *Успехи химии.* 1991. Т. 60. № 11. С. 2362–2372.
- Nicolaides N. // *Science.* 1974. V. 186 (4158). P. 19–26.
- Corcoran B.M., Stanton C., Fitzgerald G.F., Ross R.P. // *Microbiology.* 2007. V. 153. P. 291–299.
- Guerrini S., Bastianini A., Granchi L., Vincenzini M. // *Curr. Microbiol.* 2002. V. 44. № 1. P. 5–9.
- Hassinen, J.B., Durbin, G.T., Bernhard, F.W. // *Arch. Biochem.*, 1950. V. 25. P. 91–96.
- Boughton B.W., Pollock M.R. // *Biochem. J.* 1953. V. 53. P. 261–265.
- Lo K.W., Chua H., Lawford H., Lo W.H., Peter H.F.Y. // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2005. V. 122. № 1–3. P. 575–580.
- Dekio I., Hayashi H., Sakamoto M., Kitahara M., Nishikawa T., Suematsu M., Benno Y. // *J. Med. Microbiol.* 2005. V. 54. P. 1231–1238.
- Терехова Е.А., Стеничева Н.А., Пшеничникова А.Б., Швец В.И. // *Прикл. биохимия и микробиология.* 2010. Т. 46. № 2. С. 180–186.

31. Doronina N., Ivanova E., Trotsenko Y., Pshenichnikova A., Kalinina E., Shvets V. // *Sistem. Appl. Microbiol.* 2005. V. 28. P. 303–309.
32. Нево А.Н.С., Пиеничникова А.Б., Складнев Д.А., Швец В.И. // *Микробиология.* 2004. Т. 73. № 2. С. 1–5.
33. Физер Л., Физер М. // Реагенты для органического синтеза. М.: Мир, 1970. Т. II. С. 320.
34. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. // *Anal. Chem.* 1983. V. 28. P. 350–356.
35. Bligh E., Dyer W.A. // *Can. J. Biochem.* 1959. № 8. P. 911–917.
36. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 322 с.
37. Christie W.W. // *Advances in Lipid Methodology* / Ed. W.W. Christie. Dundee, England: Oily Press, 1993. V. 2. P. 69–111.
38. Шмаль Э. // Хроматография в тонких слоях. М.: Мир, 1965. С. 151, 295, 482.
39. Touchstone J.C., Balin A.K., Murawec T., Kasparow M. // *J. Chromatogr. Sci.* 1970. V. 8. P. 443.
40. Mukerjee P., Mysels K.J. *Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant Systems.* National Standard Reference Data Series, National Bureau of Standards. Washington, D.C.: Government Printing Office, 1971. P. 136, 170.
41. Murakami K., Chan S.Y., Routtenberg A. // *J. Biol. Chem.* 1986. V. 261. № 33. P. 15424–15429.

Effect of Exogenous Fatty Acids on the Growth and Production of Exopolysaccharides of Obligately Methylotrophic Bacterium *Methylophilus quaylei*

S. A. M. Otman, A. B. Pshenichnikova, and V. I. Shvets

Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, Moscow, 117571 Russia

e-mail: a_pshenichnikova@mail.ru

Received September 15, 2011

Abstract—Accelerating growth and increasing exopolysaccharide production in obligate methylotrophic bacterium *Methylophilus quaylei* were observed in the presence of C₁₂–C₁₈ fatty acids added to the growth media. Sodium oleate was the best growth factor. Based on data on the composition of the free fatty acids fraction in the cells and the values of the ζ-potential and fluorescence anisotropy of whole cells, we suggested that fatty acids were incorporated in the outer membrane of *M. quaylei*.