

# ВИРОБНИЦТВО $\alpha$ -АМІЛАЗИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНИЙ ПРОТИБІОПЛІВКОВИЙ АГЕНТ

Смірнова Я.А., Луценко Т.М.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, [yana.smirnova.sci@gmail.com](mailto:yana.smirnova.sci@gmail.com)

## Abstract

*In this work, we characterized  $\alpha$ -amylase synthesized from bacteria and their perspectives of using it as an anti-biofilm agent. Numerous infectious diseases are connected with microbial biofilms. They are also antibiotic-resistant because of their structure. Enzymes, especially  $\alpha$ -amylase produced by *Bacillus* sp. using submerged fermentation, are effective methods of biofilm disruption due to their biodegradation.*

**Keywords:** *biofilm,  $\alpha$ -amylase, fermentation, enzymes, bacteria.*

**Вступ.** Дослідження методів руйнування біоплівки наразі привертає увагу все більшої кількості вчених, що пов'язано з важливістю даної теми. Біоплівки – це скупчення мікроорганізмів, що з'єднуються між собою та з поверхнею, за допомогою позаклітинних полімерних речовин. З біоплівками пов'язана велика кількість інфекційних захворювань; також вони формуються навколо протезів та різних видів імплантів, викликаючи підвищену імунну відповідь. Одним із способів руйнування біоплівки є застосування ферментів.

Метою даної роботи було охарактеризувати головні особливості  $\alpha$ -амілази, її виробництва та механізм протибіоплівкової активності.

**Матеріали і методи.** Аналітичний огляд наукових праць закордонних авторів за ключовими словами даної роботи. Літературний пошук здійснювався в таких наукових базах даних, як Scopus, Elsevier та PubMed.

**Результати та обговорення.** Амілази - це переважно гідролазні ферменти, які гідролізують глікозидні зв'язки, присутні в молекулах крохмалю, і утворюють декстрини та олігосахариди. Існує два типи амілаз: екзоамілази та ендоамілази. Екзоамілази гідролізують невідновний кінець крохмалю. Ендоамілази гідролізують глікозидні зв'язки в молекулі крохмалю [1].

Альфа-амілаза – це промисловий фермент, який розщеплює внутрішні альфа-1-4 глікозидні групи крохмалю та інших полісахаридів з утворенням декількох продуктів, таких як глюкоза і мальтоза [2]. Деполімеризація крохмалю альфа-амілазою є основою багатьох промислових процесів, включаючи виробництво декстрозних сиропів, випікання та пивоваріння. Вони застосовуються у фармацевтичній промисловості як харчові добавки та миючі засоби [3].

$\alpha$ -амілазу можна виділити з рослин, тварин або мікроорганізмів. Ензими мікробіологічного походження набули популярності завдяки простоті виділення у великих кількостях, економічності, стабільності та можливості застосування генної інженерії для інтенсифікації промислового отримання ферменту [4]. Серед широкого спектру видів мікроорганізмів, що секретують амілази найбільш поширеними є *Bacillus* spp. (*B. subtilis*, *B. Amyloliquefaciens*), *Rhodothermusmarinus*, *Chromohalobacter* sp., *Halobacillus* sp. та інші [1].

Для виробництва альфа-амілази в промислових масштабах часто використовують глибинну ферментацію (SMF – submerged fermentation) та

ферментацію у твердому стані (SSF – solid state fermentation). SSF використовується для виробництва альфа-амілази з легко перероблюваних відходів, таких як папір. Твердофазну ферментацію застосовують для тих мікроорганізмів, які ростуть в умовах низької вологості. SSF найкраще підходить для ферментації міцеліальних грибів, оскільки поживне середовище доволі схоже на їх природню сферу існування [1]. SMF використовується для виробництва біопродуктів на рідких поживних середовища, що містять мелясу. Цей метод вимагає значної вологості, яка має вирішальне значення для росту мікроорганізмів (переважно бактерій) у середовищі для виробництва альфа-амілази [2]. На виробництво  $\alpha$ -амілази впливають такі фактори, як температура, період інкубації, рН, джерела карбону та нітрогену та інші. Виробництво ферменту та накопичення біомаси бактерій потребує крохмалю або моносахаридних цукрів як джерело карбону та солей амонію або інших органічних та неорганічних сполук як джерело нітрогену [4].

Біоплівка визначається як сукупність мікроорганізмів, прикріплених до інертної або живої поверхні за допомогою саморобної полімерної матриці, або як сукупність мікробних клітин, пов'язаних з поверхнею і розміщених у матриці, що складається переважно з полісахаридного матеріалу [5]. Позаклітинні полімерні речовини (EPS – extracellular polymeric substances) складаються з полісахаридів, білків, нуклеїнових кислот і мінералів, що надає їм здатності до кращої адгезії на поверхні та забезпечує живлення мікробних клітин, що мешкають у ньому. EPS не тільки забезпечують живлення клітин, але й перешкоджають проникненню антимікробних препаратів і формують резистентність до антибіотиків [6]. Одним із потенційних шляхів вирішення цієї проблеми є використання ферментів, наприклад, амілаз, які є біодеградованими, нетоксичними і можуть розкладати EPS, зокрема, шляхом дії на екзополісахариди. Гідролізуючи біоплівку мікроорганізмів, ці ферменти ініціюють від'єднання сидячих бактеріальних клітин і переводять їх у планктонний стан, що спричиняє підвищену чутливість до антибіотиків та імунної системи господаря. [7] Одним із методів визначення деградації EPS є спектрофотометрія, за допомогою якої визначають кількість вуглеводів [6].

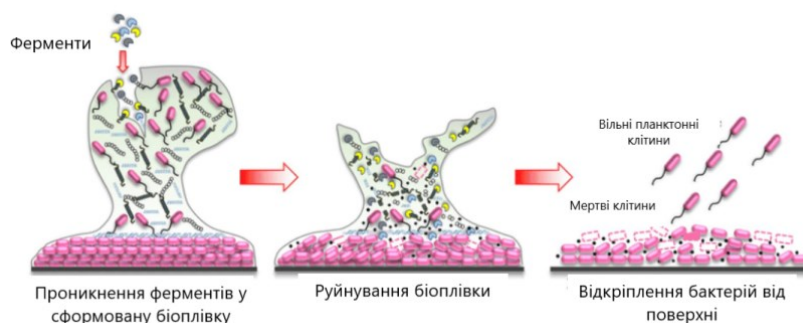


Рис. 1. Руйнування сформованої біоплівки ферментами [8]

**Висновки.**  $\alpha$ -амілаза – це фермент, що гідролізує глікозидні зв'язки у крохмалі, формуючи декстрини та олігосахариди. Унаслідок своїх фізико-хімічних особливостей даний ензим може стати перспективним методом

руйнування біоплівки: амілази здатні руйнувати екзополісахариди EPS, щоб знизити стійкість до антибіотиків та підвищити ефективність застосування протимікробних засобів. У майбутніх роботах за даною темою необхідно звернути увагу на підбір умов для найбільш ефективного культивування, дослідити інші види амілаз, потенційні джерела їх отримання та їх взаємодію з EPS.

### Список використаної літератури:

1. Biosynthesis and industrial applications of  $\alpha$ -amylase: a review / M. A. Farooq та ін. *Archives of Microbiology*. 2021. Т. 203, № 4. С. 1281–1292. URL: <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02128-y> (дата звернення: 02.05.2024).
2. Microbial Alpha-Amylase Production: Progress, Challenges and Perspectives / B. Elyasi Far et al. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2020. Vol. 10, no. 3. P. 350–358. URL: <https://doi.org/10.34172/apb.2020.043> (date of access: 02.05.2024).
3. Antibiofilm Potential of Alpha-Amylase from a Marine Bacterium, *Pantoea agglomerans* / C. Goel et al. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2022. Vol. 2022. P. 1–10. URL: <https://doi.org/10.1155/2022/7480382> (date of access: 02.05.2024).
4. A promising microbial  $\alpha$ -amylase production, and purification from *Bacillus cereus* and its assessment as antibiofilm agent against *Pseudomonas aeruginosa* pathogen / A. M. Abo-Kamer та ін. *Microbial Cell Factories*. 2023. Т. 22, № 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02139-6> (дата звернення: 02.05.2024).
5. Silver Iodide Nanoparticles as an Antibiofilm Agent—A Case Study on Gram-Negative Biofilm-Forming Bacteria / M. Kannan et al. *Nanostructures for Antimicrobial Therapy*. 2017. P. 435–456. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-46152-8.00019-6> (date of access: 02.05.2024).
6. Antibiofilm Activity of  $\alpha$ -Amylase from *Bacillus subtilis* and Prediction of the Optimized Conditions for Biofilm Removal by Response Surface Methodology (RSM) and Artificial Neural Network (ANN) / D. Lahiri та ін. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2021. Т. 193, № 6. С. 1853–1872. URL: <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03509-9> (дата звернення: 02.05.2024).
7. Strategy to combat biofilms: a focus on biofilm dispersal enzymes / S. Wang et al. *npj Biofilms and Microbiomes*. 2023. Vol. 9, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41522-023-00427-y> (date of access: 02.05.2024).
8. Advances and Future Prospects of Enzyme-Based Biofilm Prevention Approaches in the Food Industry / S. Nahar et al. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2018. Vol. 17, no. 6. P. 1484–1502. URL: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12382> (date of access: 02.05.2024).