



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 184–195

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 184–195

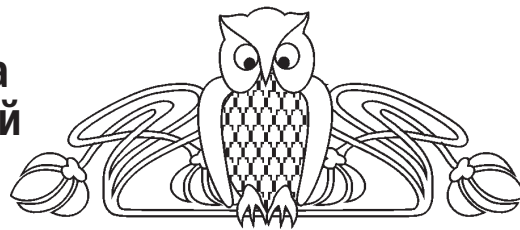
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-184-195>, EDN: BIMGSY

Научная статья

УДК [579.8:547]:544.023

Формирование монослоев Ленгмюра из нативных фосфолипидов бактерий различных систематических групп



В. А. Кузнецова , М. В. Каневский, Е. В. Глинская, Е. Г. Глуховской

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Кузнецова Виктория Александровна, магистрант кафедры микробиологии и физиологии растений, viktoriakuznecova807@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6329-1587>

Каневский Матвей Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, заведующий учебно-научной лабораторией молекулярной биологии, matvejkanev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, elenavg-2007@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>

Глуховской Евгений Геннадьевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией Образовательно-научного института наноструктур и биосистем, glukhovskoy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8282-3638>

Аннотация. Фосфолипиды являются важнейшими структурными элементами клеточной стенки бактерий, участвуют в адаптации микроорганизмов к среде обитания и могут выступать в качестве биомаркеров на изменение окружающей среды и одним из компонентов экологического или природоохранного мониторинга. Нативные фосфолипиды используются для формирования моделей клеточных мембран, биофизические свойства которых можно исследовать методом Ленгмюра – Блоджетт. Целью настоящей работы являлось выделение и характеристика фосфолипидов клеточных мембран бактерий *Staphylococcus aureus* 209-Р и *Bacillus cereus* 8035 и формирование на их основе монослоев Ленгмюра. В составе экстракта фосфолипидов *S. aureus* 209-Р и *B. cereus* 8035 обнаружены жирные кислоты: гексадекановая, транс-9-октадеценновая, октадекановая, тетрадекановая, 13-метилтетрадекановая, 14-метилпентадекановая, 15-метилгексадекановая, цис-9-октадекановая. Для формирования монослоя использовали рабочий раствор нативных фосфолипидов в хлороформе с концентрацией $C = 10^{-3}$ М. Монослой, сформированный при внесении на поверхность 50 мкл раствора смеси фосфолипидов, имеет более совершенную структуру, что проявляется в постоянстве его механических свойств. При анализе полученных данных четко выраженной зависимости изменения параметров монослоев от температуры выявлено не было. Изменения модуля сжатия и сжимаемости были очень незначительные. При повышении концентрации хлорида натрия в субфазе наблюдаются изменения модуля сжатия, а, следовательно, и жесткости монослоя.

Ключевые слова: фосфолипиды, жирные кислоты, монослои Ленгмюра, *Staphylococcus aureus* 209-Р, *Bacillus cereus* 8035

Благодарности. Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам Центра коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» за проведение анализа состава фосфолипидов экстрактов бактерий.

Для цитирования: Кузнецова В. А., Каневский М. В., Глинская Е. В., Глуховской Е. Г. Формирование монослоев Ленгмюра из нативных фосфолипидов бактерий различных систематических групп // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 2. С. 184–195. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-184-195>, EDN: BIMGSY

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Formation of Langmuir monolayers from native phospholipids of bacteria of various systematic groups

V. A. Kuznetsova , M. V. Kanevsky, E. V. Glinskaya, E. G. Glukhovskoy

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Viktoria A. Kuznetsova, viktoriakuznecova807@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6329-1587>

Matvey V. Kanevsky, matvejkanev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>

Elena V. Glinskaya, elenavg-2007@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>

Evgeny G. Glukhovskoy, glukhovskoy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8282-3638>



Abstract. Phospholipids are the most important structural elements of the bacterial cell wall, participate in the adaptation of microorganisms to the environment and can act as biomarkers for environmental changes and one of the components of environmental monitoring. Native phospholipids are used to form models of cell membranes, the biophysical properties of which can be studied by the Langmuir-Blodgett method. The aim of this work was to isolate and characterize the phospholipids of the cell membranes of the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* and the formation of Langmuir monolayers based on them. The composition and ratio of fatty acids were determined by gas-liquid chromatography of fatty acid methyl esters. Fatty acids, found in the extract of the bacteria *S. aureus* 209-P and *B. cereus* 8035, are: hexadecanoic, trans-9-octadecenoic, octadecanoic, tetradecanoic, 13-methyltetradecanoic, 14-methylpentadecanoic, 15-methylhexadecanoic, cis-9-octadecanoic. To form a monolayer, a working solution of native phospholipids in chloroform with a concentration of $C = 10^{-3}$ M was used. The monolayer formed when a 50 μ l solution of a phospholipid mixture is applied to the surface has a more perfect structure, which is manifested in the constancy of its mechanical properties. The analysis of the obtained data has not yet revealed a clear dependence of the monolayer parameters on temperature. The changes in the compression modulus and compressibility were very minor. With an increase in the salt concentration, both an increase and a decrease in the compression modulus, and, consequently, the rigidity of the monolayer, is observed.

Keywords: phospholipids, Langmuir monolayers, tight packaging, *Staphylococcus aureus* 209-P, *Bacillus cereus* 8035

Acknowledgements. The authors express their deep gratitude to the staff of Symbiosis, the centre where the collective use of scientific equipment in the field of physical-chemical biology and nanobiotechnology is carried out, and to the Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, a separate structural unit of the Federal State Budgetary Institution of Science, and to the Saratov Centre of the Russian Academy of Sciences for conducting the analysis of the phospholipid composition of bacterial extracts.

For citation: Kuznetsova V. A., Kanevsky M. V., Glinskaya E. V., Glukhovskoy E. G. Formation of Langmuir monolayers from native phospholipids of bacteria of various systematic groups. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 2, pp. 184–195 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-184-195>, EDN: BIMGSY

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Клеточные мембраны представлены в основном двойным слоем липидов, главным компонентом которых являются фосфолипиды. Бимолекулярная природа и амфипатический характер позволяют клеточным мембранам формировать двуслойную структуру, которая защищает бактерии от воздействия негативных факторов среды, но не нарушает обмен веществ, который необходим для роста и развития организма [1]. Несмотря на огромное количество вариантов фосфолипидных структур в клетках прокариот, большинство из них представлены глицеролипидами, которые включают в себя две цепи жирных кислот. Типичные молекулы фосфолипидов состоят из полярной головной части, в состав которой входит остаток фосфорной кислоты и связанный с ним многоатомный спирт, и двух цепочек-хвостов из остатков жирных кислот. Особенность молекул заключается в их амфифильности: головная часть гидрофильна, а хвостовые цепочки гидрофобны. Такая структура фосфолипидов гарантирует образование плотной физико-химической мембранной структуры, которая будет непроницаема для водорастворимых веществ внеклеточной среды и будет поддерживать нужную концентрацию молекул в цитоплазме, необходимую для нормальной жизнедеятельности клетки. К тому же длина цепи и степень насыщенности жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов, опосредуют

толщину и текучесть биомембран [2]. Бактерии синтезируют широкий спектр фосфолипидов, такие как фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерин, дифосфатидилглицерин. Они отличаются друг от друга количеством и длиной ацильных цепей, числом, положением и геометрией ненасыщенных связей, а также структурой, полярностью и зарядом гидрофильных головок [3].

Большое разнообразие компонентов, из которых построены биологические мембраны, делают их сложными уникальными объектами для исследования. В фосфолипидную матрицу, которая является основой таких мембран, встроены различные молекулы, обеспечивающие выполнение различных функций (транспорт, селективная проницаемость, проведение электрических импульсов и др.). Следует отметить, что не только инкрустированные в мембрану молекулы несут функциональную активность, но также и сами фосфолипиды, которые образуют липидную матрицу мембраны. От состава и соотношения жирных кислот зависит стабильность этой структуры. От этого, в свою очередь, зависит жизнеспособность клетки в целом.

Также есть бактерии, которые существуют в экстремальных условиях среды, например, бактерии, обитающие в неполярных ледниках, подвержены значительным колебаниям температуры, что существенно влияет на текучесть мембран бактериальных клеток. Для поддержания нормальных функций клеточных мембран психрофильные бактерии адаптируются путем



изменения состава жирных кислот клеточных мембран [4]. У термофильных бактерий была выявлена необычная внутрицитоплазматическая мембрана, которая была подобна пирелуллосоме [5]. Для некоторых галофильных бактерий установлен факт активного выделения наноразмерных везикул, которые содержат белки, липиды и нуклеиновые кислоты, во внеклеточную среду. Благодаря этим везикулам бактерии способны выживать в среде с высокой солёностью [6].

Свойства природных мембран исследуют на модельных системах, таких как мицеллы, липосомы. Также для этих целей применим метод монослоёв Ленгмюра [2].

Метод Ленгмюра-Блоджетт (ЛБ) является одним из методов получения тонких плёнок и покрытий. Сжатие барьеров позволяет анализировать фазовые состояния мономолекулярных слоёв (МС) и характеризовать их с помощью функционально связанных параметров поверхностного давления и площади поверхности [7]. Все этапы формирования монослоя и его структуру можно наблюдать на изотерме сжатия. Основными параметрами, определяемыми по изотерме сжатия монослоев, являются удельная площадь (A_0), модуль сжатия монослоя ($C_0^{-1} = -A_0 \cdot (d\pi / dA)$), и обратная ему величина – сжимаемость (C_0) [8]. Применение монослоёв Ленгмюра – Блоджетт позволяет получить модель, которая даёт возможность исследовать физические особенности взаимодействия амфифильных молекул в ходе формирования жидкокристаллической структуры. Также немаловажен тот факт, что метод позволяет наблюдать за поведением фосфолипидов в монослое для конкретного агрегатного состояния плёнки при изменяющихся внешних условиях – температуре, составе субфазы и др. [9].

Обычно для получения монослоев используют высокоочищенные вещества с содержанием основного компонента 99% и более. Однако использование индивидуальных веществ исключает синергизм, который может наблюдаться в монослоях сложных смесей, близких по составу к природным [1].

Несмотря на то что сведения по составу фосфолипидов мембран представлены в литературе широко, до сих пор малоизученным остаётся вопрос зависимости состояния и стабильности мембраны в разных условиях от качественного и количественного состава её компонентов. Целью настоящей работы являлось выделение и характеристика фосфолипидов клеточных мембран бактерий *Staphylococcus aureus* 209-Р и

Bacillus cereus 8035, формирование на их основе монослоев Ленгмюра и оценка их термодинамических характеристик.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета, лаборатории пленочных наноструктурированных материалов ОНИ наноструктур и биосистем СГУ имени Н. Г. Чернышевского, Центра коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук».

Для выделения нативных фосфолипидов использовали тест-культуры грамположительных бактерий, относящихся к филуму Firmicutes, классу Bacilli: *Staphylococcus aureus* 209-Р (семейство Staphylococcaceae, ГИСК имени Л. А. Тарасевича, Москва) и *Bacillus cereus* 8035 (семейство Bacillaceae, ГИСК имени Л. А. Тарасевича, Москва).

Бактерии культивировали в стерильном режиме на термостатируемой качалке в колбах с жидкой питательной средой (ГРМ-бульон (Россия, Оболенск), 2% глюкозы) при температуре 37°C в течение 48 ч до окончания экспоненциальной фазы роста. Далее клетки отделяли от культуральной жидкости при 10000×g в течение 20 мин. Полученные образцы биомассы трёхкратно отмывали 0,15 М раствором NaCl, центрифугируя каждый раз 15 мин при 10000×g.

Для выделения фосфолипидов к осадку клеток добавляли смесь хлороформа и метанола в соотношении 1:2, образец выдерживали в холодильнике ($t = 4^\circ\text{C}$) в течение 1 ч, периодически перемешивая. Полученную смесь центрифугировали 5 мин при 10000×g, добавляли к осадку смесь хлороформа и метанола (1:2) для повторной экстракции. После центрифугирования (10000×g, 5 мин) к супернатанту добавляли смесь воды и хлороформа в соотношении 1:1, центрифугировали 15 мин при 5000×g. Отбирали нижний слой фосфолипидов [10].

Определение общего фосфора проводили по стандартной методике Беренблум и Чейн [11].

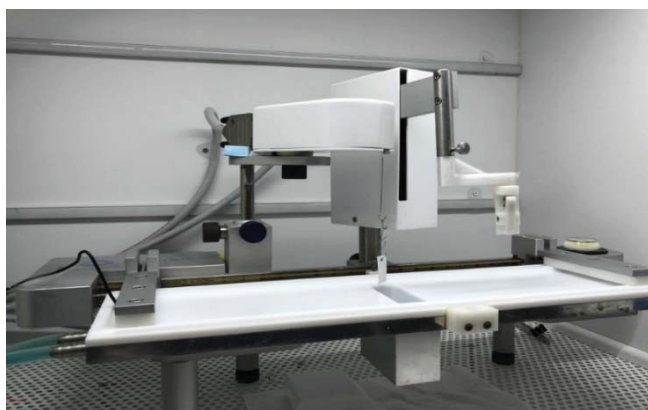
Определение состава и соотношения жирных кислот липида А осуществляли методом газовой-жидкостной хроматографии (ГЖХ)



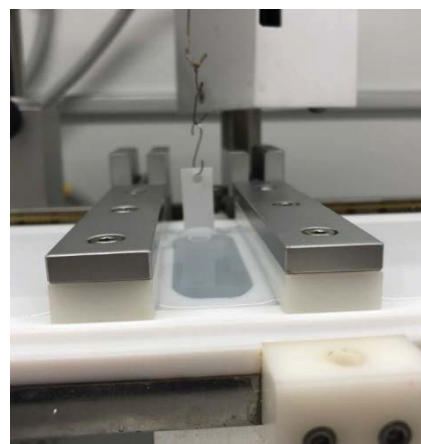
метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК). Метилирование жирных кислот липида А выполняли согласно методике, описанной в работе Mayeretal [12]. Идентификацию жирных кислот липида А проводили по эталонным образцам фирмы Sigma (США) в процентах от суммы всех МЭЖК. Программирование температурного режима осуществляли в интервале от 130 до 250 °С со скоростью нагрева 4 °С/мин. Температура испарителя – 250 °С, температура детектора – 270 °С, скорость газа-носителя (He) 1,3 см³/мин; сброс 1:50.

Идентификацию метиловых эфиров жирных кислот выполняли на газовом хроматографе GC-2010 (Shimadzu, Япония), снабженном капиллярными колонками DB-5 (Hewlett-Packard, США) и EQUITY-1 (Supelco, США).

Исследование плавающих монослоев Ленгмюра проводили с использованием раствора выделенных из тест-культур бактерий фосфолипидов в хлороформе в концентрации 10⁻³ М. Для формирования монослоев использовали установку KSV Nima LB Trough KN2002 (рис. 1, а, б).



а/а



б/б

Рис. 1. Ванна Ленгмюра – Блodgeтт KSV Nima LB Trough KN2002 в начале (а) и в конце (б) сжатия монослоя подвижными барьерами

Fig. 1. Langmuir – Blodgett bath KSV Nima LB Trough KN2002 at the beginning (a) and at the end (b) of compression of the monolayer by movable barriers

В качестве водной субфазы использовалась деионизованная вода. Для формирования монослоя на поверхность наносили раствор фосфолипидов в хлороформе. После испарения хлороформа монослой сжимали подвижными барьерами со скоростью 15 мм/мин [13].

Для изучения влияния температурного фактора на параметры монослоев водную субфазу и желоб ванны нагревали с помощью термостата до температуры 28, 30, 33, 37, 41, 44 °С. После достижения нужной температуры на поверхность субфазы наносили раствор фосфолипидов. После испарения хлороформа монослой сжимали подвижными барьерами со скоростью 15 мм/мин.

Для исследования влияния концентрации раствора соли на параметры монослоев в качестве водной субфазы использовали раствор соли NaCl (0,9; 3; 5%). На поверхность также наносили 50 мкл раствора фосфолипидов. После испарения хлороформа монослой сжимали подвижными барьерами со скоростью 15 мм/мин.

Результаты и их обсуждение

Ранее были охарактеризованы монослои Ленгмюра из фосфолипидов, выделенных из граммотрицательной *E. coli* [8]. Однако интерес представляют также фосфолипиды грамположительных бактерий, поэтому в качестве объекта исследования нами были выбраны *S. aureus* 209-Р и *B. cereus* 8035.

Выделение было проведено в соответствии с методикой [10].

В результате исследований по определению состава жирных кислот экстракта, полученного из исследуемых микроорганизмов с использованием метода газовой-жидкостной хроматографии [12], было установлено наличие семи жирных кислот в экстракте бактерий *B. cereus* 8035: гексадекановая, транс-9-октадеценановая, октадекановая, тетрадекановая, 13-метилтетрадекановая, 14-метилпентадекановая, 15-метилгексадекановая (табл. 1).



Таблица 1 / Table 1

**Встречаемость метиловых эфиров жирных кислот в образцах, выделенных из культур
B. cereus 8035 и *S. aureus* 209-P****The occurrence of fatty acid methyl esters in samples isolated from cultures of *B. cereus* 8035 and *S. aureus* 209-P**

Жирные кислоты / Fatty acids	Содержание в образцах, % / Content in samples, %	
	<i>S. aureus</i> 209-P	<i>B. cereus</i> 8035
Октадекановая / Octadecane	37 ± 2	50 ± 3
Гексадекановая / Hexadecane	38 ± 3	40 ± 1
14-метилпентадекановая / 14-methylpentadecane	3 ± 1	3,6 ± 1
Тетрадекановая / Tetradecane	1 ± 0,5	2 ± 0,2
13-метилтетрадекановая / 13-methyltetradecane	8 ± 0,6	1,8 ± 0,3
Транс-9-октадеценная / Trans-9-octadecene	1 ± 0,6	1,6 ± 0,1
15-метилгексадекановая / 15-methylhexadecane	5 ± 1	1 ± 0,1
Цис-9-октадеценная / Cis-9-octadecene	7 ± 1	–

В экстракте фосфолипидов *S. aureus* 209-P обнаружены восемь жирных кислот: гексадекановая, транс-9-октадекановая, октадекановая, тетрадекановая, 13-метилтетрадекановая, 14-метилпентадекановая, 15-метилгексадекановая, цис-9-октадекановая (см. табл. 1).

Количественный состав жирных кислот экстрактов рассматриваемых бактерий отличается незначительно. В обоих экстрактах преобладают насыщенные жирные кислоты. Мажорными являются гексадекановая и октадекановая кислоты. Их количество в экстракте *S. aureus* 209P составляет 76%, в то время как для *B. cereus* 8035 этот показатель достигает 92%. В экстрактах также обнаружены ненасыщенные жирные кислоты и насыщенные жирные кислоты с разветвленными цепями. Полученные результаты согласуются с литературными данными о встречаемости жирных кислот в мембранах *S. aureus* и *B. cereus* [14, 15]. Состав экстракта фосфолипидов *B. cereus* 8035 отличался качественно и количественно: в нём не было обнаружено октадеценной кислоты, была выше доля октадекановой и гексадекановой кислот, а также обнаружено меньше 14-метилпентадекановой, 13-метилтетрадекановой и 15-метилгексадекановой кислот (см. табл. 1).

Известно, что спектр жирных кислот у микроорганизмов, выращенных при заданных условиях, является наиболее консервативной характеристикой, которая может быть использована в видовой хемодифференциации и таксономической классификации микроорганизмов [16].

Для количественной оценки содержания фосфолипидов в экстрактах, мы проанализи-

зировали количество фосфора в образце [11]. Установили, что концентрация фосфора составляет $14,4 \pm 0,4$ мкг/мл для *B. cereus* 8035, $15,5 \pm 0,3$ мкг/мл для *S. aureus* 209-P. Исходя из строения фосфолипидов (на 1 остаток фосфорной кислоты приходится 2 остатка жирных кислот), концентрации фосфора и средневзвешенной массы жирных кислот, было установлено, что концентрация фосфолипидов в растворе составила $3,2 \times 10^{-3}$ М для *B. cereus* 8035, и 3×10^{-3} М – для *S. aureus* 209-P.

Далее по методике проводили исследование плавающих монслоёв Ленгмюра с использованием раствора выделенных из тест-культур бактерий фосфолипидов в хлороформе в концентрации 1×10^{-3} М [17]. На полученных экспериментальных зависимостях поверхностного натяжения от удельной площади (средней площади, приходящейся на одну молекулу) определяли участки, соответствующие состояниям молекул с плотной упаковкой (рис. 2).

На каждой изотерме легко просматривается участок, на котором поверхностное давление увеличивается по мере сжатия монслоя. На соответствующих участках зависимостей модуля сжатия от удельной площади это проявляется как локальные максимумы. Хорошо видно, что МС, сформированный при внесении на поверхность 50 мкл раствора смеси фосфолипидов, демонстрирует постоянство модуля сжатия на участке подъёма изотермы. Такое постоянство при сжатии его механических свойств (в данном случае модуля сжатия) может говорить о том, что МС при таких условиях имеет наиболее совершенную структуру.

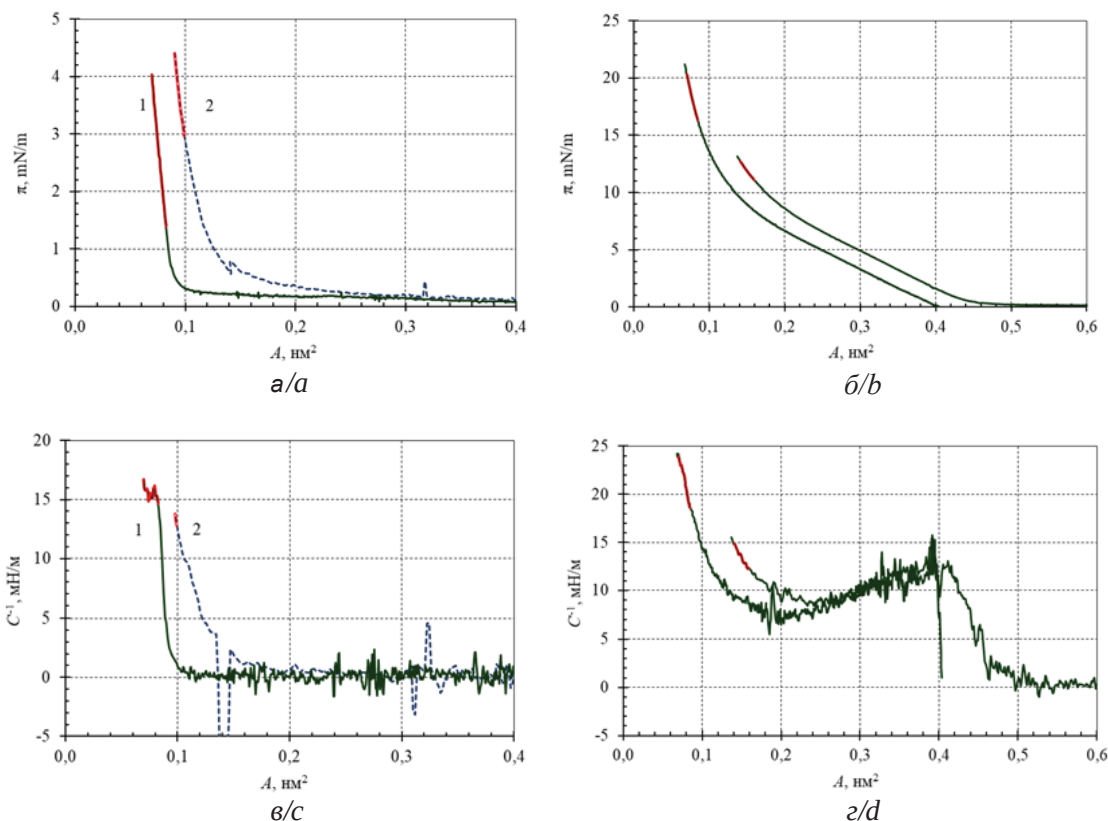


Рис. 2. Изотермы (а, б) и модуль сжатия (в, г) монослоев, сформированных из растворов *Staphylococcus aureus* 209-Р (а, в) и *Bacillus cereus* 8035 (б, г) двух различных объемов, внесенных на поверхность воды: 100 и 50 мкл – кривые 1 и 2 соответственно

Fig. 2. Isotherms (a, b) and compression modulus (c, d) of monolayers formed from solutions of *Staphylococcus aureus* 209-P (a, c) and *Bacillus cereus* 8035 (b, d) of two different volumes deposited on the water surface: 100 and 50 μl – curves 1 and 2 respectively

Нужно отметить, что изотермы монослоев отличаются, что, вероятно, может быть связано с разницей качественного и количественного состава экстрактов. Установлено, что монослой, построенный из фосфолипидов *B. cereus* 8035, имеет более плавный переход между состояниями «газ» и «жидкость». Для этого экстракта характерно содержание 1,6% непредельных жирных кислот, в то

время как в экстракте *S. aureus* 209-Р идентифицировано 8% непредельных жирных кислот. Поэтому наблюдаемый результат может быть обусловлен особенностями стерического взаимодействия.

Рассчитанные для выделенных участков (в диапазонах от A_{\min} до A_{\max}) величины удельной площади A_0 и модуля сжатия C_0^{-1} представлены в табл. 2.

Таблица 2 / Table 2

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Staphylococcus aureus* 209-Р и *Bacillus cereus* 8035
Parameters of monolayers of native phospholipids *Staphylococcus aureus* 209-P and *Bacillus cereus* 8035

Параметр / Parameter	<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P		<i>Bacillus cereus</i> 8035	
	V, μl		V, μl	
	50	100	50	100
A_{\min} , нм^2	0,08	0,06	0,14	0,07
A_{\max} , нм^2	0,1	0,08	0,16	0,085
A_0 , нм^2	0,117	0,089	0,284	0,143
C_0 , м/МН	0,064	0,068	0,00385	0,000516
C_0^{-1} , МН/м	14,8	15,6	259	1938

Примечание. A – удельная площадь молекул монослоя, C_0 – сжимаемость монослоя, C_0^{-1} – модуль сжатия монослоя.
Note. A is the specific area of the monolayer molecules, C_0 – is the compressibility of the monolayer, C_0^{-1} is the compression modulus of the monolayer.



При анализе полученных результатов было обнаружено, что с увеличением количества вносимого на поверхность вещества (V) величина модуля сжатия увеличивается, а сжимаемость уменьшается. С одной стороны, это может свидетельствовать о достижении более плотной упаковки молекул в монослоях при внесении большего объема на поверхность водной субфазы. Однако можно видеть, что именно при меньших объемах вносимого раствора плотная упаковка начинает формироваться немного раньше (при больших величинах удельных площадей), чем при больших объемах. Такое проявление влияния объема раствора (смещение или растяжение изотерм параллельно шкале A) типично для поверхностно-активных веществ, молекулы которых склонны к образованию агрегатов, или в тех случаях, когда для формирования истинного МС недостаточно свободной площади. Исходя из этих соображений для формирования МС во всех последующих экспериментах на поверхность

воды вносилось 50 мкл рабочего раствора.

От параметров внешней среды зависят физико-химические свойства мембраны, такие как текучесть, вязкость [18]. Изменение этих параметров влечёт за собой изменение функционального статуса мембран клеток, что может привести к серьёзным нарушениям в работе систем поддержания гомеостаза. Среди абиотических факторов внешней среды, с которыми бактериальным клеткам приходится сталкиваться, основными являются температура и осмолярность. Поэтому следующим этапом было исследование влияния температуры на особенности формирования плавающих монослоев нативных фосфолипидов *S. aureus* 209-Р и *B. cereus* 8035. Исходя из возможных условий роста обеих исследуемых культур [19, 20], изотермы сжатия и зависимости модуля сжатия от удельной площади таких МС, сформированных при температурах 28, 30, 33, 37, 41 и 44°C, представлены на рис. 3.

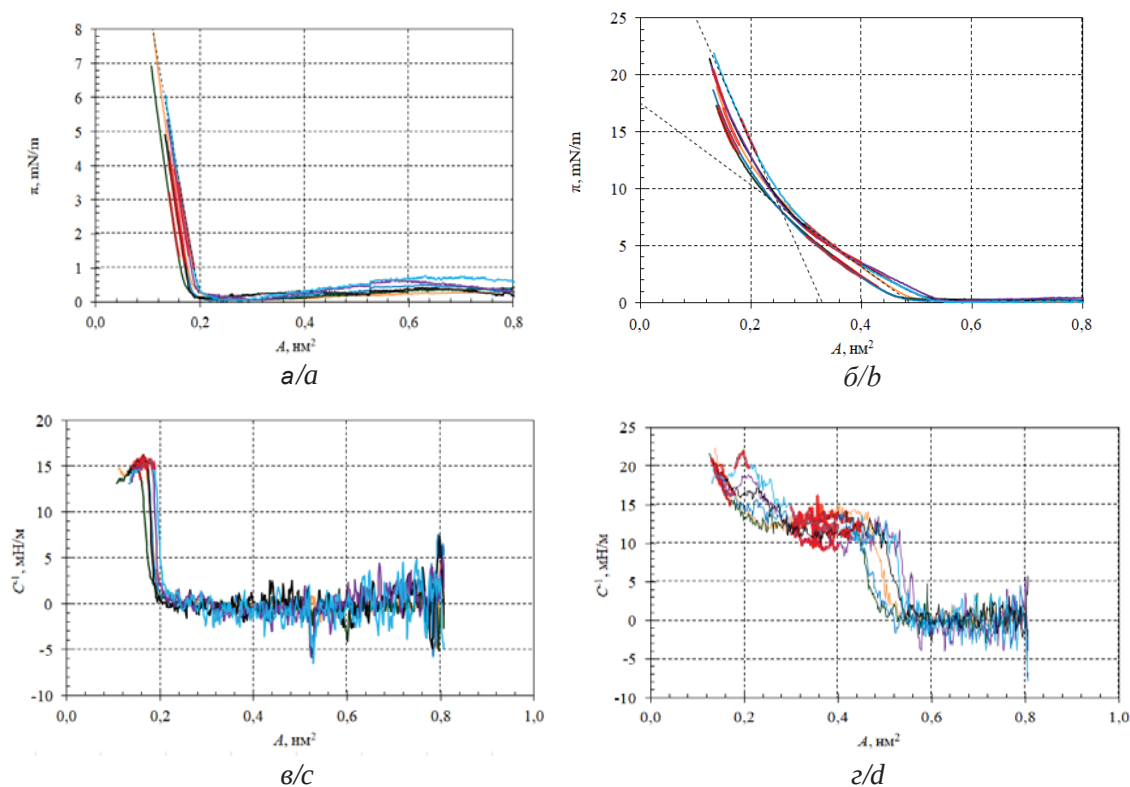


Рис. 3. Изотермы (а, б) и модуль сжатия (в, г) монослоев, сформированных при разных температурах *Staphylococcus aureus* 209-Р (а, в) и *Bacillus cereus* 8035 (б, г). Соответствие цветов линий на графиках: 28°C – оранжевая, 30°C – зеленая, 33°C – синяя, 37°C – черная, 41°C – фиолетовая, 44°C – голубая (цвет онлайн)

Fig. 3. Isotherms (a, b) and compression modulus (c, d) of monolayers formed at different temperatures of *Staphylococcus aureus* 209-P (a, c) and *Bacillus cereus* 8035 (b, d). Line color matching on graphs: 28°C – orange, 30°C – green, 33°C – blue, 37°C – black, 41°C – purple, 44°C – blue (color online)



На полученных экспериментальных зависимостях поверхностного натяжения от удельной площади (средней площади, приходящейся на

одну молекулу) также определяли участки, соответствующие состояниям молекул с плотной упаковкой (табл. 3, 4).

Таблица 3 / Table 3

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Staphylococcus aureus* 209-P при разных температурах
Parameters of monolayers of native phospholipids of *Staphylococcus aureus* 209-P at different temperatures

Параметр / Parameter	Температура субфазы, °C / Subphase temperature, °C					
	28	30	33	37	41	44
A_{\min} , нм ²	0,14	0,14	0,15	0,14	0,15	0,16
A_{\max} , нм ²	0,17	0,16	0,175	0,17	0,18	0,19
A_0 , нм ²	0,184	0,172	0,184	0,181	0,193	0,2
$C_0 = K_0$, м/мН	0,0018	0,0017	0,0019	0,0018	0,002	0,002
$C_0^{-1} = \chi$ мН/м	545	575,9	508,8	556,2	480,7	439,8

Примечание. См. табл. 2 / Note. See Table 2.

Таблица 4 / Table 4

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Bacillus cereus* 8035 при разных температурах
Parameters of monolayers of native phospholipids *Bacillus cereus* 8035 at different temperatures

Параметр / Parameter	Температура субфазы, °C / Subphase temperature, °C					
	28	30	33	37	41	44
A_{\min} , нм ²	0,15	0,14	0,14	0,16	0,13	0,18
A_{\max} , нм ²	0,18	0,17	0,18	0,19	0,15	0,21
A_0 , нм ²	0,305	0,291	0,303	0,283	0,277	0,329
$C_0 = K_0$, м/мН	0,0028	0,0026	0,0029	0,0021	0,002	0,003
$C_0^{-1} = \chi$ мН/м	356,9	382,7	349,1	474,1	496,2	331,6

Примечание. См. табл. 2 / Note. See Table 2.

Как видно полученных данных, четко выраженной зависимости параметров монослоев от температуры не выявлено. Изменения модуля сжатия и сжимаемости также были очень незначительны. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что монослои экстрактов поддерживают стабильность структуры в исследуемом диапазоне температур. Это хорошо соотносится с литературными данными о росте бактерий в указанных условиях [19, 20].

Основываясь на способности исследуемых бактерий расти на средах с разной концентрацией NaCl [21, 22], для исследования влияния солёности на свойства плавающих монослоев в качестве водной субфазы использовали водные растворы с различным содержанием NaCl – 0,9; 3 и 5%. Результаты этих исследований представлены на рис. 4 и в табл. 5 и 6.

Вид изотерм сжатия и рассчитанные параметры зависят от концентрации раствора NaCl. При повышении концентрации соли в субфазе

наблюдается увеличение модуля сжатия, а следовательно, и жесткости монослоя. На всех экспериментальных зависимостях не просматривается четких границ для разных состояний плёнки – газ, газ–жидкость, жидкость и твёрдое состояние – как это показано для индивидуальных фосфолипидов [23], что может быть связано с гетерогенностью состава экстракта.

Как известно, внесение неорганических солей приводит к изменению зарядового состояния головной группы поверхностно-активных веществ (ПАВ) в составе МС Ленгмюра [24]. Мы можем констатировать факт довольно сильного влияния натриевой соли на плотность упаковки молекул в монослоях обеих культур: при повышении концентрации наблюдается увеличение удельной площади и уменьшение модуля сжатия. Другими словами, монослои при добавлении соли становятся более разреженными («рыхлыми»). Все это является внешним проявлением изменения заряда гидрофильных головок молекул

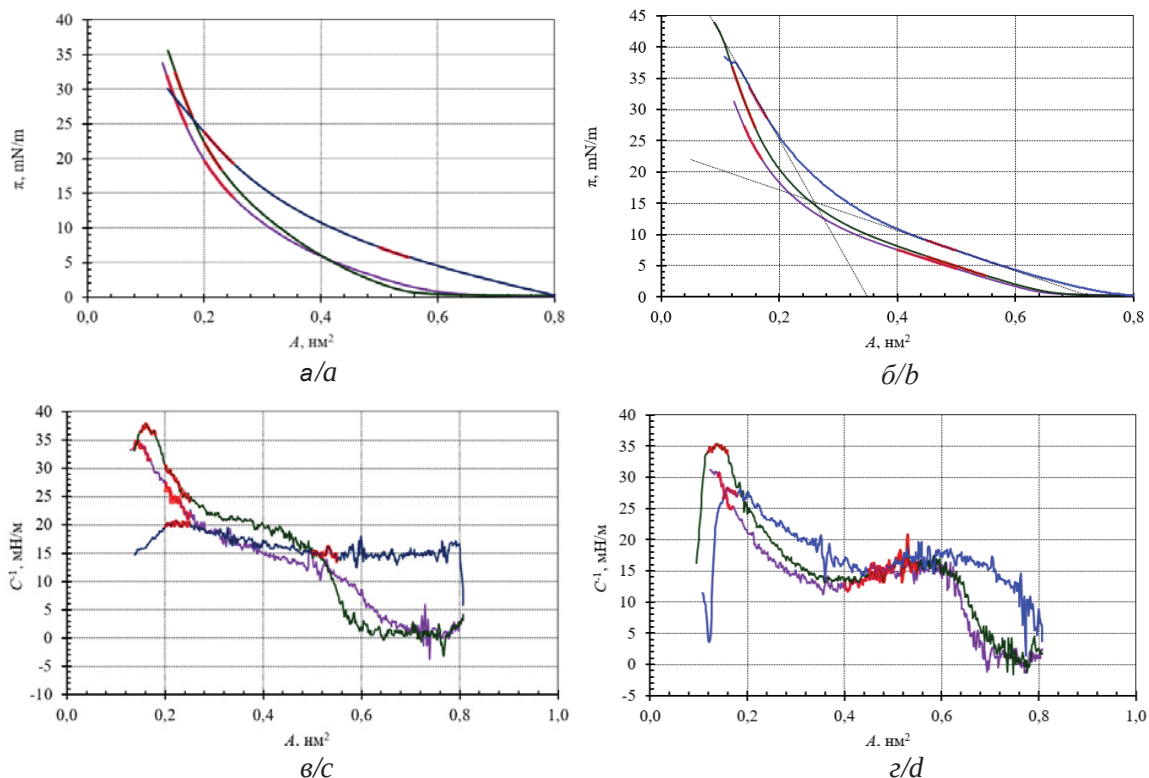


Рис. 4. Изотермы (а, б) и модуль сжатия (в, г) монослоев, сформированных при разном содержании NaCl в водной субфазе *Staphylococcus aureus* 209-P (а, в) и *Bacillus cereus* 8035 (б, г). Соответствие цветов линий на графиках: 0,9% – фиолетовая, 3% – зеленая, 5% – синяя (цвет онлайн)

Fig. 4. Isotherms (a, b) and compression modulus (c, d) of monolayers formed with different NaCl content in the aqueous subphase of *Staphylococcus aureus* 209-P (a, c) and *Bacillus cereus* 8035 (b, d). Color matching of the lines on the charts: 0.9% – purple, 3% – green, 5% – blue (color online)

Таблица 5 / Table 5

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Staphylococcus aureus* 209-P
Parameters of monolayers of native phospholipids of *Staphylococcus aureus* 209-P

Параметр / Parameter	Содержание NaCl, % / NaCl Content, %		
	0,9	3	5
A_{min} , нм ²	0,135	0,15	0,2
A_{max} , нм ²	0,17	0,18	0,25
A_0 , нм ²	0,280	0,295	0,464
$C_0 = K_0$, м/мН	0,0012	0,0013	0,005
$C_0^{-1} = \chi$ мН/м	787,5	761,9	193,3

Примечание. См. табл. 2 / Note. See Table 2.

Таблица 6 / Table 6

Параметры монослоев нативных фосфолипидов *Bacillus cereus* 8035
Parameters of monolayers of native phospholipids of *Bacillus cereus* 8035

Параметры / Parameters	Содержание NaCl, % / NaCl Content, %		
	0,9	3	5
A_{min} , нм ²	0,14	0,12	0,15
A_{max} , нм ²	0,17	0,16	0,18
A_0 , нм ²	0,295	0,267	0,349
$C_0 = K_0$, м/мН	0,0016	0,0011	0,002
$C_0^{-1} = \chi$ мН/м	592,4	938,3	482,7

Примечание. См. табл. 2 / Note. See Table 2.



фосфолипидов. Вместе с этим есть вероятность, что при изменении зарядового состояния ухудшается структурное совершенство молекул МС, они становятся менее упорядоченными.

Интересно отметить еще два факта. Во-первых, монослой *S. aureus* 209-Р оказался более чувствительным к концентрации NaCl, чем монослой *B. cereus* 8035 – для него увеличение удельной площади и уменьшение модуля сжатия при увеличении концентрации соли было больше. Во-вторых, можно видеть некоторый порог (при увеличении концентрации от 3 до 5%), когда изменения в МС происходят довольно интенсивно. Такое поведение представляет интерес для дальнейшего изучения термодинамических характеристик монослоев Ленгмюра, полученных для смеси фосфолипидов, выделенных из мембран бактериальных клеток с привлечением других методов, как уже отмечалось выше. Возможно, что причиной является отличие в соотношении жирных кислот, входящих в состав мембран. В экстракте *S. aureus* 209-Р на 26% меньше насыщенных и на 6% больше ненасыщенных жирных кислот, чем в экстракте *B. cereus* 8035. Это может обуславливать изменение интенсивности стерических взаимодействий под влиянием различных концентраций NaCl в субфазе.

Заключение

Анализ метиловых эфиров жирных кислот показал, что фосфолипидный состав у бактерий *S. aureus* 209-Р и *B. cereus* 8035 различается на одну жирную кислоту. Результаты показали, что спектр жирных кислот, входящих в состав мембран бактерий *B. cereus* 8035, представлен семью жирными кислотами. Для бактерий *S. aureus* 209-Р характерно наличие восьми жирных кислот в составе экстракта. В обоих образцах идентифицированы насыщенные, мононенасыщенные и насыщенные с разветвленной цепью жирные кислоты, среди которых преобладают гексадекановая и октадекановая. Установлено, что с увеличением количества наносимых фосфолипидов величина модуля сжатия увеличивается, а сжимаемость уменьшается. При анализе полученных данных четко выраженной зависимости параметров монослоев от температуры не выявлено. Изменения модуля сжатия и сжимаемости незначительны. При повышении концентрации соли отсутствует зависимость модуля сжатия и жесткости монослоя. Это свидетельствует о том, что монослой более чувствителен к изменению концентрации соли в субфазе, чем температуры.

Качественный и количественный состав фосфолипидов обуславливает способность мембран к поддержанию постоянства физических параметров в широком диапазоне температур и концентрации солей. Это можно рассматривать как аспект адаптации бактериальных клеток к изменяющимся внешним воздействиям.

Список литературы

1. *Sastre D. E., Basso L. G. M.* Membrane fluidity adjusts the insertion of the transacylase PlsX to regulate phospholipid biosynthesis in Gram-positive bacteria // *J. Biol. Chem.* 2020. Vol. 295, № 7. P. 36–47. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011122>
2. *Shrivastava R., Jiang X., Chng S. S.* Outer membrane lipid homeostasis via retrograde phospholipid transport in *Escherichia coli* // *Mol. Microbiol.* 2017. Vol. 106, № 3. P. 395–408. <https://doi.org/10.1111/mmi.13772>
3. *Андрюков Б. Г., Ляпун И. Н.* Значение мембранных фосфолипидов в реализации защитных стратегий бактерий // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2020. Т. 97, № 6. С. 594–603. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-6-10>
4. *Hassan N., Anesio A. M., Rafiq M., Holtvoeth J., Bull I., Haleem A., Shah A. A., Hasan F.* Temperature driven membrane lipid adaptation in glacial psychrophilic bacteria // *Front Microbiol.* 2020. Vol. 11. P. 824. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00824>
5. *Anders H., Power J. F., MacKenzie A. D., Lagutin K., Vyssotski M., Hanssen E., Moreau J. W., Stott M. B.* *Limisphaera ngatamarikiensis* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, pink-pigmented coccus isolated from subaqueous mud of a geothermal hot spring // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2015. Vol. 65, № 4. P. 1114–1121. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000063>
6. *Barut D., Enuh B. M., Derkuş B., Güler Ü., Salih B., Aytar Çelik P.* The relationship between bacterial outer membrane vesicles and halophilic adaptation // *Mol. Omics.* 2023. Vol. 19, № 2. P. 174–181. <https://doi.org/10.1039/d2mo00259k>
7. *Суходолов Н. Г., Иванов Н. С., Подольская Е. П.* Новые материалы, полученные методом Ленгмюра-Блоджетт, и их применение в нанотехнологии и приборостроении (гибридные материалы) // *Научное приборостроение.* 2013. Т. 23, № 1. С. 86–105.
8. *Зубова К. В., Кузнецова В. А., Аль-Альвани А. Ж., Глинская Е. В., Каневский М. В., Глуховской Е. Г.* Исследования ленгмюровских монослоев фосфолипидов, выделенных из мембран тест-культуры *E. coli* K-12 // *Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ.* 2021. Т. 6, № 2. С. 68–69.
9. *Brezesinski G., Möhwald H.* Langmuir monolayers to study interactions at model membrane surfaces // *Advances in colloid and interface science.* 2003. Vol. 100. P. 563–584. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00071-4](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00071-4)



10. Кузнецова В. А., Зубова К. В., Глинская Е. В., Глуховской Е. Г. Выделение нативных фосфолипидов бактерий *E. coli* K-12 и апробация их при формировании монослоев Ленгмюра // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине. 2021. Т. 3. С. 57–61.
11. Berenblum I., Chain E. An improved method for the colorimetric determination of phosphate // *Biochem J.* 1938. Vol. 32, № 2. P. 295–298.
12. Mayer H., Tharanathan R. N., Weckesser J. Analysis of lipopolysaccharide of Gram-negative bacteria // *Meth. Microbiol.* 1985. Vol. 18. P. 157–207. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70475-6](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70475-6)
13. Smirnova A. I., Giricheva N. I., Soldatova K. M., Ezhov A. V., Glukhovskoy E. G., Usoltseva N. V. Phthalocyanine and porphyrin derivatives of A3B-type: Quantum-chemical modeling of dimmers // *Liq. Cryst. and their Appl.* 2021. Vol. 21, №1. P. 50–60. <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2021.1.50>
14. Wang Y., Shen J., Meng F., Lu Z., Lv F., Zhou L., Zhao H. Effects of monolauryl-galactosylglycerol on membrane fatty acids and properties of *Bacillus cereus* // *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2023. Vol. 107. P. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12567-4>
15. Boudjema R., Cabriel C., Dubois-Brissonnet F., Bourg N., Dupuis G., Gruss A., Sandrine L.-F., Romain B., Marie-Pierre F.-A., Steenkeste K. Impact of bacterial membrane fatty acid composition on the failure of daptomycin to kill *Staphylococcus aureus* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2018. Vol. 62, № 7. P. 10. <https://doi.org/10.1128/aac.00023-18>
16. Андрюков Б. Г., Сомонова Л. М., Тимченко Н. Ф. Жирные кислоты как объект исследования температурных адаптационных стратегий микроорганизмов-психрофилов // *Здоровье. Медицинская экология. Наука.* 2015. Т. 3, № 61. С. 43–49.
17. Begletsova N. N., Mironyuk V. N., Ezhov A. V., Smirnova A. I., Usoltseva N. V., Glukhovskoy E. G. Features of formation of Langmuir monolayers of porphyrin derivatives on the surface of aqueous solutions of copper nanoparticles // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2020. Vol. 1697. P. 012118. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1697/1/012118>
18. Шупко Е. С., Дуванова О. В. Изменение спектра жирных кислот как один из механизмов адаптации/персистенции микроорганизмов // *Журн. микробиол.* 2019. Т. 5. С. 109–118.
19. Choma C., Clavel T., Dominguez H., Razafindramboana N., Soumille H., Nguyen-the C., Schmitt P. Effect of temperature on growth characteristics of *Bacillus cereus* TZ415 // *International Journal of Food Microbiology.* 2000. Vol. 55, № 1-3. P. 73–77. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00197-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00197-5)
20. Valero A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J. M., García-Gimeno R. M., Zurera G. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity // *International Journal of Food Microbiology.* 2009. Vol. 133, № 1–2. P. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023>
21. Lee S., Choi K. H., Yoon Y. Effect of NaCl on biofilm formation of the isolate from *Staphylococcus aureus* outbreak linked to ham // *Korean Journal for Food Science of Animal Resources.* 2014. Vol. 34, № 2. P. 257. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.2.257>
22. Raevuori M., Genigeorgis C. Effect of pH and sodium chloride on growth of *Bacillus cereus* in laboratory media and certain foods // *Applied Microbiology.* 1975. Vol. 29, № 1. P. 68–73. <https://doi.org/10.1128/am.29.1.68-73.1975>
23. Qassime M. M., Goryacheva V. A., Al-Alwani A. J., Lugovitskaya T. N., Shipovskaya A. B., Glukhovskoy E. G. A studying of subphase temperature and dissolved ascorbic acid concentration influence on the process of Langmuir monolayer formation // *Journal of Physics: Conference Series.* IOP Publishing, 2018. Vol. 1124, № 3. P. 031010. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1124/3/031010>
24. Naveen K., Lei W., Igor S., Michel D., Frieder M. Salt dependent stability of stearic acid Langmuir–Blodgett films exposed to aqueous electrolytes // *Langmuir.* 2013. Т. 29, № 17. С. 5150–5159. <https://doi.org/10.1021/la400615j>

Reference

1. Sastre D. E., Basso L. G. M. Membrane fluidity adjusts the insertion of the transacylasePlsX to regulate phospholipid biosynthesis in Gram-positive bacteria. *J. Biol. Chem.*, 2020, vol. 295, no. 7, pp. 36–47. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011122>
2. Shrivastava R., Jiang X., Chng S. S. Outer membrane lipid homeostasis via retrograde phospholipid transport in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, 2017, vol. 106, no. 3, pp. 395–408. <https://doi.org/10.1111/mmi.13772>
3. Andriukov B. G., Lyapun I. N. The significance of membrane phospholipids in the implementation of protective strategies of bacteria. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*, 2020, vol. 97, no. 6, pp. 594–603 (in Russian). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-6-10>
4. Hassan N., Anesio A. M., Rafiq M., Holtvoeth J., Bull I., Haleem A., Shah A. A., Hasan F. Temperature driven membrane lipid adaptation in glacial psychrophilic bacteria. *Front Microbiol.*, 2020, vol. 11, pp. 824. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00824>
5. Anders H., Power J. F., MacKenzie A. D., Lagutin K., Vyssotski M., Hanssen E., Moreau J. W., Stott M. B. *Limisphaera ngatamarikiensis* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, pink-pigmented coccus isolated from subaqueous mud of a geothermal hot spring. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2015, vol. 65, no. 4, pp. 1114–1121. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000063>
6. Barut D., Enuh B. M., Derkuş B., Güler Ü., Salih B., Aytar Çelik P. The relationship between bacterial outer membrane vesicles and halophilic adaptation. *Mol. Omics*, 2023, vol. 19, no. 2, pp. 174–181. <https://doi.org/10.1039/d2mo00259k>
7. Sukhodolov N. G., Ivanov N. S., Podolskaya E. P. New materials obtained by the Langmuir-Blodgett method



- and their application in nanotechnology and instrumentation (hybrid materials). *Scientific Instrumentation*, 2013, vol. 23, no. 1, pp. 86–105 (in Russian).
8. Zubova K. V., Kuznetsova V. A., Al-Alvani A. Zh., Glinskaya E. V., Kanevsky M. V., Glukhovskoy E. G. Studies of Langmuir monolayers of phospholipids isolated from *E. coli* K-12 test culture membranes. *Actual Issues of Biological Physics and Chemistry. BFFH*, 2021, vol. 6, no. 2, pp. 68–69 (in Russian).
 9. Brezesinski G., Möhwald H. Langmuir monolayers to study interactions at model membrane surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2003, vol. 100, pp. 563–584. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00071-4](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00071-4)
 10. Kuznetsova V. A., Zubova K. V., Glinskaya E. V., Glukhovskaya E. G. Isolation of native phospholipids of *E. coli* K-12 bacteria and their approbation in the formation of Langmuir monolayers. *Methods of Computer Diagnostics in Biology and Medicine*, 2021, vol. 3, pp. 57–61 (in Russian).
 11. Berenblum I., Chain E. An improved method for the colorimetric determination of phosphate. *Biochem J.*, 1938, vol. 32, no. 2, pp. 295–298.
 12. Mayer H., Tharanathan R. N., Weckesser J. Analysis of lipopolysaccharide of Gram-negative bacteria. *Meth. Microbiol.*, 1985, vol. 18, pp. 157–207. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70475-6](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70475-6)
 13. Smirnova A. I., Giricheva N. I., Soldatova K. M., Ezhov A. V., Glukhovskoy E. G., Usol'tseva N. V. Phthalocyanine and porphyrin derivatives of A3B-type: Quantum-chemical modeling of dimmers. *Liq. Cryst. and their Appl.*, 2021, vol. 21, no. 1, pp. 50–60. <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2021.1.50>
 14. Wang Y., Shen J., Meng F., Lu Z., Lv F., Zhou L., Zhao H. Effects of monolauroyl-galactosylglycerol on membrane fatty acids and properties of *Bacillus cereus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2023, vol. 107, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12567-4>
 15. Boudjemaa R., Cabriel C., Dubois-Brissonnet F., Bourg N., Dupuis G., Gruss A., Sandrine L.-F., Romain B., Marie-Pierre F.-A., Steenkeste K. Impact of bacterial membrane fatty acid composition on the failure of daptomycin to kill *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2018, vol. 62, no. 7, pp. 10. <https://doi.org/10.1128/aac.00023-18>
 16. Andriukov B. G., Simonova L. M., Timchenko N. F. Fatty acids as an object of research of temperature adaptation strategies of microorganisms-psychrophiles. *Health. Medical Ecology. The Science*, 2015, vol. 3, no. 61, pp. 43–49 (in Russian).
 17. Begletsova N. N., Mironyuk V. N., Ezhov A. V., Smirnova A. I., Usoltseva N. V., Glukhovskoy E. G. Features of formation of Langmuir monolayers of porphyrin derivatives on the surface of aqueous solutions of copper nanoparticulates. *J. Phys.: Conf. Ser.*, 2020, vol. 1697, pp. 012118. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1697/1/012118>
 18. Shipko E. S., Duvanova O. V. Changing the spectrum of fatty acids as one of the mechanisms of adaptation/persistence of microorganisms. *Journal Microbiol.*, 2019, vol. 5, pp. 109–118 (in Russian).
 19. Choma C., Clavel T., Dominguez H., Razafindramboa N., Soumille H., Nguyen-the C., Schmitt P. Effect of temperature on growth characteristics of *Bacillus cereus* TZ415. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, vol. 55, no. 1–3, pp. 73–77. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00197-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00197-5)
 20. Valero A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J. M., García-Gimeno R. M., Zurera G. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, vol. 133, no. 1–2, pp. 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023>
 21. Lee S., Choi K. H., Yoon Y. Effect of NaCl on biofilm formation of the isolate from *Staphylococcus aureus* outbreak linked to ham. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 2014, vol. 34, no. 2, pp. 257. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.2.257>
 22. Raevuori M., Genigeorgis C. Effect of pH and sodium chloride on growth of *Bacillus cereus* in laboratory media and certain foods. *Applied Microbiology*, 1975, vol. 29, no. 1, pp. 68–73. <https://doi.org/10.1128/am.29.1.68-73.1975>
 23. Qassime M. M., Goryacheva V. A., Al-Alwani A. J., Lugovitskaya T. N., Shipovskaya A. B., Glukhovskoy E. G. A studying of subphase temperature and dissolved ascorbic acid concentration influence on the process of Langmuir monolayer formation. *Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing*, 2018, vol. 1124, no. 3, pp. 031010. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1124/3/031010>
 24. Naveen K., Lei W., Igor S., Michel D., Frieder M. Salt dependent stability of stearic acid Langmuir–Blodgett films exposed to aqueous electrolytes. *Langmuir*, 2013, vol. 29, no. 17, pp. 5150–5159. <https://doi.org/10.1021/la400615j>

Поступила в редакцию: 22.11.2023; одобрена после рецензирования 04.12.2023; принята к публикации 02.02.2024
 The article was submitted 22.11.2023; approved after reviewing 04.12.2023; accepted for publication 02.02.2024