

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЛЕТКИХ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК В КУЛЬТУРАЛЬНИХ РІДИНАХ ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ

Шопінський В. В., Буценко Л. М.

Національний університет харчових технологій, Україна

chemslava@gmail.com

Ендофітні бактерії колонізують внутрішні тканини рослин, утворюючи симбіотичні асоціації та сприяючи їх росту через продукування різноманітних метаболітів, включаючи леткі органічні сполуки (ЛОС), що являють собою невеликі переважно ліпофільні сигнальні молекули. Бактеріальні ЛОС можуть як модулювати фітогормональні шляхи й підвищувати поглинання поживних речовин, так і проявляти антагоністичні ефекти щодо патогенних мікроорганізмів [1-2]. Дослідження метаболічних профілів ендофітних бактерій насіння сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) є важливим для розуміння їх рістстимулювальної і протекторної активності та потребує розроблення надійних і прецезійних аналітичних методів визначення летких метаболітів у культуральній рідині. Метою роботи була розробка валідної методики ідентифікації та напівкількісного визначення летких органічних сполук в культуральній рідині з використанням методу парофазної газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням.

Першим етапом запропонованої методики є відділення маси бактеріальних клітин центрифугуванням за 5000 об/хв протягом 10 хв. Для хроматографічного аналізу використовують вільний від клітин супернатант. У headspace-віали об'ємом 20 мл поміщають 2,0 мл супернатанту та додають 0,600 г кристалічного натрію хлориду як висолювача для підвищення ефективності переходу летких сполук у газову фазу. Віали герметично закривають алюмінієвими кришками з тефлоновими септами та перемішують 5 хв перед аналізом. Хроматографічний аналіз здійснюють за використання системи Agilent Technologies 6890N з мас-спектрометричним детектором MSD Agilent Technologies 5975. Використовують капілярну колонку, розміром 30 × 0,25 мм, покриту шаром, що містить 6 % ціанопропіл/феніл і 94 % полідиметилсилоксан, товщиною 1,4 мкм. Температуру термостатування віал встановлюють на рівні 80 °C з часом термостатування 40 хв. Об'єм введення парової фази становить 1,0 мл. Температурну програму колонки оптимізовано наступним чином: початкова температура 40 °C з витримкою 3 хв, підвищення до 100 °C зі швидкістю 4 °C/хв з витримкою 3 хв, до 200 °C зі швидкістю 8 °C/хв з витримкою 3 хв, до 240 °C зі швидкістю 20 °C/хв з витримкою 4 хв. Як газ-носії використовують гелій високої чистоти зі швидкістю 1,0 мл/хв. Температуру іонного джерела підтримують на рівні 230 °C. Мас-спектрометричне детектування здійснюють з енергією іонізації 70 eV у діапазоні сканування m/z 29-500. Сполуки ідентифікують за мас-спектрами з використанням бібліотеки NIST при коефіцієнті подібності не менше 80%. Напівкількісне визначення проводять методом внутрішньої нормалізації, з використанням площ хроматографічних піків. Розроблена методика характеризується високою селективністю та чутливістю, дозволяє одночасно аналізувати широкий спектр летких органічних сполук та забезпечує відтворюваність результатів. Методика є важливою для скринінгу перспективних штамів ендофітних бактерій з рістстимулювальними властивостями за їх здатністю продукувати біологічно активні леткі метаболіти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Khare E., Mishra J., Arora N.K. Multifaceted interactions between endophytes and plant: developments and prospects. *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9:2732.
2. Srikanwang C., Evonsa N., Sunanta P., Sangta J., Chanway C.P., Thanakkasaranee S., Sommano S.R. Role of microbial volatile organic compounds in promoting plant growth and disease resistance in horticultural production. *Plant Signaling & Behavior*. 2023. Vol. 18:e2227440.