



---

---

2022

# НАУКОВІ ПРАЦІ

## НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Том 28 № 2

*Журнал  
«Наукові праці Національного університету харчових технологій»  
видається з 1938 року*

КИЇВ ✦ НУХТ ✦ 2022

## ЗМІСТ

### Безпека харчових продуктів і охорона праці

Романовська Т. І., Осейко М. І., Романовська Н. І., Романовський Н. О. Основні вимоги до систем управління безпечністю промислового харчового виробництва

### Біотехнології

Пирог Т. П., Ключка І. В., Ключка Л. В. Вплив інактивованих клітин конкурентних мікроорганізмів на біологічну активність поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017

### Економіка, менеджмент і маркетинг

Кундєєва Г. О., Скопенко Н. С. Стійкість розвитку: продовольча безпека та безпека харчування як результат стійкості продовольчої системи

Шеремет О. О., Гринюк Ю. М. Типові характеристики HR-проектів та їх пілотних версій

### Механічна та електрична інженерія

Балута С. М., Копилова Л. О., Куєвда Ю. В., Чорний Ю. А., Куєвда В. П., Зінкевич П. О. Системи електрозабезпечення промислових і цивільних об'єктів з використанням відновлювальних джерел енергії та накопичувачів

Філоненко В. М. Діаметр паропроводу: теплоенергетичний аспект

Слюсенко А. М., Пономаренко В. В., Блаженко С. І., Хитрий Я. С. Дослідження процесу розпилення рідини за допомогою CFD-технологій

### Харчові технології

Дорохович В. В., Михальська Л. В. Визначення впливу насіння чіа на якісні показники здобного печива на цукрі і фруктозі

Сімахіна Г. О., Науменко Н. В., Межубовський О. М. Культивовані гриби — джерело нутрієнтів для виробництва харчових продуктів та дієтичних добавок

Рубанка К. В., Шевченко О. Ю. Застосування картопляної мезги у технології снєків

Башта А. О., Івчук Н. П., Бажай-Жежерун С. А. Дослідження технології халви оздоровчого призначення

Адамчук Л. О., Постойенко Г. В., Баль-Прилико Л. В., Двикалюк Р. М., Антонів А. Д., Пилипко К. В. Дослідження меду натурального на вміст залишків антибіотиків

Гойко І. Ю., Стеценко Н. О. Дослідження впливу фітокомпозиції антиоксидантної дії на комплексну оцінку якості йогурту

## CONTENTS

### Food Products Safety and Occupational Health

7 Romanovska T., Oseiko M., Romanovska N., Romanovskiy N. Basic requirements for safety management systems of industrial food production

### Biotechnologies

24 Pirog T., Kliuchka I., Kliuchka L. Influence of inactivated cells of competitive microorganisms on the biological activity of *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 surfactants

### Economy, Management and Marketing

36 Kundieieva H., Skopenko N. Sustainability of development: food security and nutrition security as a result of sustainability of the food system

54 Sheremet O., Hryniuk Y. Typical characteristics of HR-projects and their pilot versions

### Mechanical and Electrical Engineering

63 Baluta S., Kopilova L., Kuevda Ju., Chorny Y., Kuevda V., Zinkevych P. Electrical supply systems for industrial and civil facilities using renewable energy sources and accumulators

74 Filonenko V. Steam pipe diameter: heat energy aspect

90 Sliusenko A., Ponomarenko V., Blazhenko S., Khitriy Ya. Investigation of the process of spraying liquid using CFD-technologies

### Food Technologies

108 Dorohovych V., Mykhalska L. Research of the influence of chia seeds on the quality indicators of buttery cookies with sugar and fructose

118 Simakhina G., Naumenko N., Mezhubovsky O. Cultivated mushrooms as a source for production of foodstuffs and dietetic additives

132 Rubanka K., Shevchenko O. Application of potato pulp in technology of snacks

142 Bashta A., Ivchuk N., Bazhay-Zheherun S. The research of the technology of halva for health purpose

153 Adamchuk L., Postoienko H., Bal-Prylypko L., Dvykaliuk R., Antoniv A., Pylypko K. Research of the content of antibiotic residues in natural honey

163 Goyko I., Stetsenko N. Study of the influence of a phytocomposition with antioxidant properties on comprehensive assessment of yogurt quality

Пасічний В. М., Шубіна Є. А., Тищенко В. І., 173 Pasichnyi V., Shubina Y., Tischenko V., Bozh-  
Божко Н. В., Мороз О. О. Дослідження про- ko N., Moroz O. Research of hemp seed by-pro-  
дуктів переробки насіння конопель для вико- ducts for use in meat products  
ристання у м'ясних продуктах

**INFLUENCE OF INACTIVATED CELLS OF COMPETITIVE MICROORGANISMS ON THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMV AC-5017 SURFACTANTS**

T. Pirog, I. Kliuchka, L. Kliuchka

National University of Food Technologies

**Key words:**

*Antimicrobial and antiadhesive activity*  
*Biofilm destruction*  
*Biological inducers*  
*Surfactants*

**Article history:**

Received 04.03.2022  
Received in revised form 17.03.2022  
Accepted 11.04.2022

**Corresponding author:**

T. Pirog

**E-mail:**

npnuht@ukr.net

**ABSTRACT**

One of the ways to increase the antimicrobial activity of microbial synthesis products is to introduce competitive microorganisms (biological inducers) into the medium cultivation of the producer. Thus, in the presence of live cells of *Escherichia coli* IEM-1 or *Bacillus subtilis* BT-2 in the cultivation medium of *R. erythropolis* IMV Ac-5017 surfactants were synthesized which were characterized by several times higher antibacterial and antifungal activity than formed in medium without inducers. Increasing synthesis and/or antimicrobial activity of metabolites can be achieved by using inactivated cells of competitive microorganisms as inducers, which, in turn, greatly facilitates the organization of final products production.

It was found that surfactants synthesized by *R. erythropolis* IMV Ac-5017 in the presence of inactivated *E. coli* IEM-1 or *B. subtilis* BT-2 cells in the cultivation medium, were characterized by higher antimicrobial and anti-adhesive activity than surfactants formed in medium without inducers. Minimum inhibitory concentrations against bacterial test cultures (*E. coli* IEM-1, *B. subtilis* BT-2, *Staphylococcus aureus* BMS-1) of surfactants synthesized in the presence of competitive bacteria were 3—6 µg/ml and were 8—32 times lower than the surfactants formed under cultivation of IMV Ac-5017 strain in medium without *E. coli* IEM-1 or *B. subtilis* BT-2. The introduction of inducers into the *R. erythropolis* IMV Ac-5017 cultivation medium was accompanied by the formation of surfactants, after treatment with which the adhesion of test cultures cells on abiotic surfaces was on average 10—30% lower, and the degree of biofilms destruction was 10—30% higher than when using surfactants obtained without inducers.

The obtained data indicate the possibility of regulating the biological activity of *R. erythropolis* IMV Ac-5017 surfactants by introducing inactivated cells *E. coli* IEM-1 or *B. subtilis* BT-2 into cultivation medium. It is important that under such cultivation conditions the antimicrobial and anti-adhesive activity of surfactants of *Rhodococcus* genus bacteria increases to the level of known in the world amino- and glycolipids.

## **ВПЛИВ ІНАКТИВОВАНИХ КЛІТИН КОНКУРЕНТНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ НА БІОЛОГІЧНУ АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ІМВ АС-5017**

Т. П. Пирог, І. В. Ключка, Л. В. Ключка

Національний університет харчових технологій

Одним із шляхів підвищення антимікробної активності продуктів мікробного синтезу є внесення у середовище вирощування продуцента конкурентних мікроорганізмів (біологічних індукторів). Так, за наявності живих клітин *Escherichia coli* ІЕМ-1 або *Bacillus subtilis* БТ-2 у середовищі культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 синтезувалися ПАР, що характеризувалися вищою у кілька разів антибактеріальною та антифунгальною активністю, ніж утворені у середовищі без індукторів. Літературні дані свідчать про те, що підвищення синтезу та/або антимікробної активності метаболітів можна досягти використанням як індукторів інактивованих клітин конкурентних мікроорганізмів, що, у свою чергу, суттєво полегшує організацію виробництва цільових продуктів.

Встановлено, що ПАР, синтезовані *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 за внесення у середовище культивування інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 або *B. subtilis* БТ-2, характеризувалися вищою антимікробною та антиадгезивною активністю, ніж поверхнево-активні речовини, утворені на середовищі без індукторів. Мінімальні інгібуючі концентрації щодо бактеріальних тест-культур (*E. coli* ІЕМ-1, *B. subtilis* БТ-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1) ПАР, синтезовані за наявності конкурентних бактерій, становили 3–6 мкг/мл і були в 8–32 рази нижчими, ніж поверхнево-активних речовин, утворених під час вирощування штаму ІМВ Ас-5017 у середовищі без *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2. Внесення бактерій-індукторів у середовище культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 супроводжувалося утворенням ПАР, після обробки якими адгезія клітин тест-культур на абіотичних поверхнях була в середньому на 10–30% нижчою, а ступінь руйнування біоплівки на 10–30% вищим порівняно з використанням поверхнево-активних речовин, одержаних за відсутності індукторів.

Одержані дані свідчать про можливість регуляції біологічної активності поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 внесенням у середовище культивування продуцента інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2. Важливо, що за таких умов культивування антимікробна та антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин бактерій роду *Rhodococcus* підвищується до рівня відомих у світі аміно- та гліколіпідів.

**Ключові слова:** антимікробна і антиадгезивна активність, деструкція біоплівки, біологічні індуктори, поверхнево-активні речовини.

**Постановка проблеми.** Останніми роками на тлі підвищення резистентності патогенних мікроорганізмів до антибіотиків збільшується кількість наукових праць, присвячених антимікробним речовинам природного походження як

альтернативи антибіотикотерапії: поверхнево-активним речовинам (ПАР) (Bjerk та ін., 2021; De Gian, Zampolli & Di Gennaro, 2021), бактеріоцинам (Ahmad та ін., 2017; Darbandi та ін., 2022), новим метаболітам різної хімічної будови (Srinivasan, Kannappan, Shi & Lin, 2021; Bach, Passaglia, Jiao & Gross, 2022). Відомо, що антимікробна активність багатьох продуктів мікробного синтезу посилюється у разі спільного культивування продуцента з іншими мікроорганізмами (конкурентними мікроорганізмами, біологічними індукторами) (Hifnawy та ін., 2020; Liang та ін., 2020).

Раніше (Pirog та ін., 2018) було встановлено, що ПАР, синтезовані *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017, проявляють антимікробну активність щодо бактерій та дріжджів, проте мінімальні інгібуючі концентрації перебували в межах 60—500 мкг/мл і були вищими, ніж у софоро- (10—200 мкг/мл) та аміноліпідів (1—32 мкг/мл) (Pirog, Lutsay, Kliuchka & Beregova, 2019).

У наших попередніх дослідженнях (Pirog, Kliuchka, Skrotska & Stabnikov, 2020) з метою підвищення антимікробної та активності поверхнево-активних речовин здійснювали спільне культивування продуцента *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 з *Escherichia coli* ІЕМ-1 або *Bacillus subtilis* БТ-2. Встановлено, що мінімальні інгібуючі концентрації щодо бактеріальних тест-культур поверхнево-активних, синтезованих за наявності живих клітин конкурентних бактерій, становили 3—12 мкг/мл і були в 4—32 рази нижчими, ніж ПАР, утворених під час вирощування штаму ІМВ Ас-5017 у середовищі без *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2.

Відомо, що можна досягти підвищення антимікробної активності метаболітів у разі не тільки спільного культивування продуцентів з конкурентними мікроорганізмами, а й за наявності у середовищі інактивованих клітин біологічних індукторів (Elsherbiny, Moghannem & Kalaba, 2017; Liang та ін., 2019; Liang та ін., 2020; Пирог, Іванов & Ярова, 2021).

Зважаючи на викладене вище, **мета статті** полягає в тому, щоб дослідити можливості посилення біологічної активності ПАР, синтезованих *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 за внесення у середовище інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2.

**Матеріали і методи.** Основним об'єктом досліджень був виділений із забрудненого нафтою зразка ґрунту штам нафтоокиснювальних бактерій, ідентифікований як *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 (Pirog Т. Р., Shevchuk Т. А., Voloshina І. N., Gregirchak N. N., 2005). Штам ЕК-1 зареєстрований у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України за номером ІМВ Ас-5017. За хімічною природою позаклітинні ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 є комплексом гліко- (трегалозомоно- і диміколати), нейтральних (цетиловий спирт, пальмітинова кислота, метиловий ефір н-пентадеканової кислоти, міколові кислоти) і фосфоліпідів (фосфатидилгліцерин, фосфатиділетаноламін).

Як тест-культури під час визначення антимікробної та антиадгезивної активності ПАР, а також їх ролі у руйнуванні біоплівки використовували штами бактерій (*B. subtilis* БТ-2, *E. coli* ІЕМ-1, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2) і дріжджів (*Candida albicans* Д-6, *Candida utilis* БВС-65) з колекції живих

культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій.

*R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 вирощували у рідкому середовищі (г/л):  $\text{NaNO}_3$  — 1,3,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,1,  $\text{NaCl}$  — 1,0,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  — 0,6,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,14,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,001, рН 6,8—7,0. Як джерело вуглецю та енергії використовували етанол у концентрації 2% (об'ємна частка).

Як посівний матеріал використовували культуру в експоненційній фазі, вирощену у середовищі наведеного складу з 0,5% етанолу. Інокулят, в якому чисельність бактерій становила  $10^4$ — $10^5$  кл/мл, вносили у кількості 10% від об'єму середовища.

Бактерії *E. coli* ІЕМ-1, вирощені на м'ясо-пептонному агарі (МПА) упродовж 14 год, або *B. subtilis* БТ-2, вирощені на МПА упродовж 14 і 24 год, суспендували в 100 мл стерильної водопровідної води, інактивували клітини стерилізацією в автоклаві при  $131^\circ\text{C}$  упродовж 1 год і вносили з розрахунку 10 мл суспензії на 100 мл поживного середовища у лаг- і експоненційній фазі росту *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017.

Культитивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2 і без бактерій-індукторів здійснювали у 750 мл колбах з 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при  $30^\circ\text{C}$  упродовж 5 діб.

Кількість позаклітинних ПАР визначали ваговим методом після екстракції з супернатанту сумішшю Фолча, як описано раніше у (Пирог, Іванов & Ярова, 2021). Антимікробну активність поверхнево-активних речовин аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК), як описано у попередніх дослідженнях (Пирог, Іванов & Ярова, 2021).

Антиадгезивну активність ПАР визначали, як описано в (Rufino та ін., 2011). Однакові пластинки ( $1\text{ cm}^2$ ) досліджуваних матеріалів попередньо очищали мийним засобом, ополіскували дистильованою водою, висушували на повітрі та стерилізували (стальні пластини, кахель — при  $121^\circ\text{C}$ , пластик, лінолеум — при  $112^\circ\text{C}$  упродовж 30 хв). Після стерилізації пластини обробляли розчином ПАР (у контрольному варіанті — стерильним фосфатним буфером) та витримували при  $30^\circ\text{C}$  протягом 18—24 год. Далі контрольні і попередньо оброблені препаратами ПАР матеріали ополіскували стерильним фосфатним буфером або дистильованою водою для видалення залишку препаратів.

Тест-культури мікроорганізмів суспендували у 100 мл стерильної водопровідної води, у суспензію поміщали попередньо оброблені і необроблені (контрольні) матеріали і витримували 2 год при  $30^\circ\text{C}$ . Контрольні і попередньо оброблені матеріали ополіскували фосфатним буфером, щоб змити неадгезовані клітини. Матеріали з адгезованими на них клітинами залишали до висихання на повітрі, після чого адгезовані клітини фіксували, поміщаючи матеріал спочатку у метанол (99%) на 15 хв і фарбували у 1% розчині генціанвіолету 5 хв. Пластини матеріалу ополіскували водопровідною водою і залишали при кімнатній температурі до висихання. Далі адгезовані клітини з барвником змивали з поверхні матеріалів 1 мл льодової оцтової кислоти, вносили 9 мл дистильованої води і вимірювали оптичну густина отриманої суспензії на фотоелектроколометрі при довжині хвилі 540 нм.

Кількість адгезованих клітин визначали як відношення оптичної густини суспензії, отриманої після оброблення матеріалів препаратами ПАР, до оптичної густини суспензії, отриманої після оброблення матеріалів фосфатним буфером (контроль), і виражали у відсотках.

Визначення впливу ПАР на руйнування біоплівки здійснювали, як описано у (Gomes & Nitschke, 2012). Для формування біоплівки у полістиролові мікропланшети вносили 180 мкл м'ясо-пептонного бульйону (МПБ) чи рідкого суслу та 20 мкл суспензії однодобової тест-культури, інкубували упродовж 24 год при оптимальній для тест-культури температурі, після чого зливали культуральну рідину і вносили 180 мкл свіжого МПБ чи суслу і 20 мкл суспензії тест-культури і ще інкубували впродовж наступних 24 год. Через 48 год культуральну рідину зливали, а в лунки мікропланшета (з попередньо сформованою на них біоплівкою тест-культури вносили по 200 мкл препаратів ПАР різної концентрації. У контрольні варіанти (лунки) замість препаратів ПАР вносили стерильну водопровідну воду (200 мкл). Через 24 год експозиції лунки тричі промивали 200 мкл дистильованої води і визначали кількість адгезованих клітин спектрофотометричним методом. Ступінь руйнування біоплівки (%) визначали як різницю між адгезією клітин у необроблених і оброблених ПАР лунках полістиролового планшета.

Усі досліди проводили в 3 повторах, кількість паралельних визначень в експериментах становила 3—5. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали, як описано раніше (Pirog, Shevchuk, Voloshina & Gregirchak, 2005). Відмінності середніх показників вважали достовірними на рівні значимості  $p < 0,05$ .

**Результати і обговорення.** У табл. 1 наведено мінімальні інгібуючі концентрації поверхнево-активних речовин, синтезованих за наявності у середовищі культивування продуцента ПАР інактивованих клітин *E. coli* IEM-1 і *B. subtilis* БТ-2 (спорових і вегетативних). Ці дані свідчать, що внесення у середовище бактерій-індукторів супроводжувалося утворенням ПАР, антимікробна активність яких була суттєво вищою порівняно з встановленою для поверхнево-активних, одержаних на середовищі без конкурентних мікроорганізмів. Зазначимо, що ПАР, синтезовані за наявності *B. subtilis* БТ-2 і *E. coli* IEM-1 у середовищі культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, проявляли високу антимікробну активність не тільки щодо клітин конкурентних бактерій, а й щодо *S. aureus* БМС-1: значення МІК щодо усіх досліджуваних тест-культур були в 8—32 рази нижчими, ніж поверхнево-активних речовин, утворених під час вирощування штаму ІМВ Ас-5017 у середовищі без *E. coli* IEM-1 і *B. subtilis* БТ-2.

Дані, наведені у табл. 2, свідчать, що незалежно від типу конкурентних мікроорганізмів (вегетативні і спорові клітини *B. subtilis* БТ-2, *E. coli* IEM-1) та моменту внесення у середовище культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 синтезовані ПАР ефективніше руйнували біоплівку *B. subtilis* БТ-2, ніж поверхнево-активні речовини аналогічної концентрації, утворені у середовищі без конкурентних мікроорганізмів. Зазначимо, що у досліджуваному діапазоні концентрацій ПАР (від 192 до 3 мкг/мл) ступінь руйнування біоплівки *B. subtilis* БТ-2 був достатньо високим і становив 48—65% (у варіанті без індукторів), 63—89 і 61—85% за використання як індукторів спорових і вегетативних клітин *B. subtilis* БТ-2, 56—83% — *E. coli* IEM-1.

Ступінь руйнування біоплівки *C. utilis* БВС-65 (табл. 3) за дії ПАР, синтезованих за наявності у середовищі культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2, був вищим, ніж після обробки розчинами поверхнево-активних речовин, одержаних на середовищі без індуктора. Так само, як і для біоплівки *B. subtilis* БТ-2 (табл. 2), високий ступінь деструкції дріжджової біоплівки (49—89%) досягався в широкому діапазоні концентрацій ПАР (від 192 до 12 мкг/мл).

На відміну від *B. subtilis* БТ-2, внесення у середовище культивування *R. Erythropolis* ІМВ Ас-5017 клітин *E. coli* ІЕМ-1 супроводжувалося синтезом ПАР, за наявності яких ступінь деструкції цієї дріжджової біоплівки був усього на кілька відсотків (не більше 3—5) вищим порівняно з таким за дії поверхнево-активних речовин, синтезованих у середовищі без індуктора.

У табл. 4 наведено дані щодо руйнування біоплівок інших бактеріальних і дріжджових тест-культур під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у середовищі з конкурентними мікроорганізмами. Одержані результати свідчать про позитивний вплив клітин *B. subtilis* БТ-2 і *E. coli* ІЕМ-1 на біологічну активність утворених за таких умов ПАР: ступінь руйнування біоплівок *S. aureus* БМС-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2 і *C. albicans* Д-6 був на 8—32% вищим порівняно з використанням поверхнево-активних речовин, синтезованих *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у середовищі без конкурентних мікроорганізмів.

Адгезія клітин *Candida albicans* Д-6 (табл. 5) на абіотичних поверхнях, оброблених поверхнево-активними речовинами, синтезованими за внесення у середовище культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 конкурентних бактерій, була нижчою (7—32%), ніж після обробки ПАР, одержаними у середовищі без індукторів (33—87%).

**Таблиця 1. Антимікробна активність поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017, синтезованих за наявності конкурентних мікроорганізмів**

Конкурентний мікроорганізм (індуктор)	Фаза росту <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017, в якій вносили індуктор	Мінімальні інгібуючі концентрації (мкг/мл) щодо			
		<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спори)	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (вегетативні)
Контроль (без індуктора)	—	48	48	96	48
<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спорова культура)	Лаг-фаза	6	3	3	6
	Експоненційна	3	3	3	6
<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	Лаг-фаза	6	3	3	6
	Експоненційна	3	6	6	3
<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	Лаг-фаза	6	3	6	6
	Експоненційна	3	3	6	6

**Таблиця 2. Вплив поверхнево-активних речовин, синтезованих *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності біологічних індукторів, на руйнування біоплівки *Bacillus subtilis* БТ-2**

Індуктор	Стан клітин індуктора	Фаза росту <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017, в якій вносили індуктор	Деструкція біоплівки (%) за дії ПАР у концентрації (мкг/мл)						
			192	96	48	24	12	6	3
<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	Інактивовані вегетативні	Лаг-фаза	82,5	78,3	74,5	69,9	67,7	65,8	60,5
		Експоненційна	84,5	74,4	71,1	64,0	62,5	60,5	60,8
	Інактивовані спорові	Лаг-фаза	89,2	87,4	80,5	75,5	71,8	65,9	63,7
		Експоненційна	88,4	79,3	79,1	73,3	69,1	64,8	63,0
<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	Інактивовані	Лаг-фаза	75,8	70,9	68,4	67,5	64,9	59,2	56,1
		Експоненційна	83,2	74,1	68,7	68,3	63,5	60,8	57,5
Без індуктора		—	65,0	63,7	62,7	59,1	57,4	50,1	48,1

**Примітка:** Табл. 2—4: під час визначення ступеня руйнування біоплівки похибка не перевищувала 5%.

**Таблиця 3. Руйнування біоплівки *Candida utilis* БВС-65 під впливом ПАР, синтезованих за наявності у середовищі культивування *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 інактивованих клітин *Bacillus subtilis* БТ-2**

Клітини індуктора	Фаза росту <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017, в якій вносили індуктор	Деструкція біоплівки (%) за дії ПАР у концентрації (мкг/мл)						
		192	96	48	24	12	6	3
Інактивовані вегетативні	Лаг-фаза	88,6	64,4	62,8	56,9	55,7	50,6	43,3
	Експоненційна	88,6	61,7	57,7	52,8	48,9	44,7	40,9
Інактивовані спорові	Лаг-фаза	71,1	59,7	56,9	54,7	48,9	43,3	42,7
	Експоненційна	76,1	67,8	66,7	61,1	59,7	56,7	42,8
Без індуктора		60,8	52,7	50,0	48,6	41,7	42,1	37,5

**Таблиця 4. Деструкція бактеріальних і дріжджових біоплівок за наявності поверхнево-активних речовин, синтезованих в різних умовах культивування *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017**

Тест-культура	*Концентрація ПАР, мкг/мл	Руйнування біоплівки за дії ПАР, синтезованих без індуктора, %	Деструкція біоплівки (%) за дії ПАР, утворених за наявності інактивованих клітин індукторів		
			<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (вегетативні)	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спорові)	<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1
<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	3	31,9	50,8	50,6	39,4
<i>Pseudomonas</i> sp. МІ-2	25	39,3	54,8	58,3	62,7
<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	6	36,1	45,3	44,2	68,3
<i>Candida albicans</i> Д-6	50	32,5	48,6	49,2	52,7

**Примітки:** Живі та інактивовані клітини індукторів вносили у середовище культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у лаг-фазі.

\* — ефективна концентрація ПАР, що забезпечувала максимальне руйнування біоплівки.

Таблиця 5. Прикріплення дріжджових і бактеріальних клітин до абіотичних поверхонь після обробки поверхнево-активними речовинами, синтезованими за наявності конкурентних мікроорганізмів

Інактивовані клітини індуктора	Концентрація ПАР, мкг/мл	Адгезія (%) <i>Candida albicans</i> Д-6			Адгезія (%) <i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1		
		кахель	сталь	скло	кахель	сталь	скло
<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	24	13	7	24	32	23	33
	12	10	15	17	33	27	31
	6	10	15	10	34	33	23
	3	8	11	7	24	38	23
<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	24	10	11	10	39	39	33
	12	16	15	17	29	29	26
	6	20	16	17	25	26	23
	3	32	19	21	29	21	20
Без індуктора	24	42	33	38	50	43	41
	12	49	37	55	54	45	42
	6	58	58	66	60	52	43
	3	87	76	83	72	64	46

**Примітка:** Інактивовані клітини бактерій-індукторів вносили у лаг-фазі (на початку процесу культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017).

Дані, наведені у табл. 5, свідчать про те, що внесення інактивованих клітин індукторів у середовище культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 супроводжувалося утворенням ПАР, після обробки якими адгезія клітин *S. aureus* БМС-1 на абіотичних поверхнях становила 20—39% і була нижчою, порівняно з використанням поверхнево-активних речовин, одержаних за відсутності індуктора (41—72%).

Зазначимо, що у переважній більшості досліджень щодо впливу конкурентних мікроорганізмів на антимікробну активність метаболітів як біологічні індуктори використовували живі клітини (Li та ін., 2014; Alves, Sequeira & Cunha, 2019; Hifnawy та ін., 2020). У деяких працях (Luti & Yonis, 2013; Liang та ін., 2020) досліджували роль як живих, так і інактивованих клітин індукторів у регуляції антимікробної активності продуктів мікробного синтезу. Звичайно ж, з технологічної точки зору використання інактивованих клітин індукторів є набагато простішим. Тому не дивно, що деякі науковці досліджували вплив тільки інактивованих клітин конкурентних мікроорганізмів на синтез та антимікробну активність метаболітів (Luti & Mavituna, 2011; Asamizu та ін., 2015; Leães та ін., 2016; Elsherbiny, Moghannem & Kalaba, 2017; Liang та ін., 2019).

Так, у праці (Luti & Mavituna F., 2011) встановлено, що внесення 2,5 і 5% (об'ємна частка) інактивованих тепловою обробкою (30 хв на киплячій водяній бані) суспензії клітин *B. subtilis* ATCC 6633 і *S. aureus* ATCC 43090 відповідно у середовище культивування штамів *Streptomyces coelicolor* А3(2) і МТ1110 (продуцентів ундецилпродігіозину — антибіотика з протипухлинною активністю) супроводжувалося підвищенням кількості синтезованого цільового продукту у 3—5 разів порівняно з концентрацією, утворюваною монокультурами А3(2) і МТ1110. Інші дослідники (Jaber & Reem, 2014) показали, що за наявності інактивованих

клітин *E. coli*, *B. subtilis* та *Saccharomyces cerevisiae* (номери штамів не наведено) у середовищі вирощування *S. coelicolor* АЗ(2) концентрація ундецилпродігіозину була в 1,16; 1,5 і 2 рази відповідно вищою, ніж синтезована штамом АЗ(2) у середовищі без індукторів. Автори цієї праці зазначають, що за використання живих клітин індукторів рівень синтезу протипухлинного антибіотику був дещо вищий, ніж за наявності інактивованих.

Leães із співавт. (Leães та ін., 2016) встановили, що у разі внесення у середовище культивування продуцента ліпопептидів *Bacillus amyloliquefaciens* P11 інактивованих тепловою обробкою клітин *S. aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923 або *Aspergillus parasiticus* (номер штаму не наведено) синтезувалися ПАР, антимікробна щодо *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 активність яких підвищувалася у 3—3,5 рази. За таких умов культивування підвищувався рівень експресії генів, відповідальних за синтез ітурину та фенгіцину. Цікаво, що використання як індукторів інактивованих клітин *E. coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC11788, *L. monocytogenes* ATCC 7644 і грибів *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, *Fusarium graminearum* (номери не наведено) не супроводжувалося збільшенням антимікробної активності синтезованих ПАР. У роботі (Leães та ін., 2016) автори не пояснювали такий «вибірковий» вплив типу індукторів на біологічну активність ПАР.

Зазначимо, що в доступній літературі нам не вдалося знайти повідомлень про підвищення біологічної активності мікробних поверхнево-активних речовин за наявності у середовищі культивування продуцента інактивованих клітин біологічних індукторів.

Наші результати (див. табл. 1) і дані попередніх досліджень (Pirog, Kluchka, Skrotska & Stabnikov, 2020) показали, що антимікробна активність ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 не залежала від фізіологічного стану індукторів (живі чи інактивовані клітини). Аналогічні результати були встановлені під час дослідження впливу живих та інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2 на біологічну активність ПАР, синтезованих *Nocardia vaccini* ІМВ В-7405 (Пирог, Скроцька & Шевчук, 2020). У той же час живі клітини *B. subtilis* БТ-2 виявилися ефективнішими порівняно з інактивованими індукторами для продуцента ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 (Пирог, Іванов & Ярова, 2021). Так, використання як індуктора живих клітин *B. subtilis* БТ-2 дало змогу підвищити антимікробну активність ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 у 2,5—23, а інактивованих — всього у 2—8 раз порівняно з показниками, встановленими для поверхнево-активних речовин, синтезованих без цього індуктора.

Водночас у літературі є інформація про те, що для індукції біосинтезу певних метаболітів необхідна наявність у середовищі культивування продуцента тільки живих клітин конкурентних мікроорганізмів. Так, у 2011 р. Onaka із співавт. (Onaka, Mori, Igarashi & Furumai, 2011) встановили, що індукторами синтезу вторинних метаболітів (у тому числі й антибіотиків) представниками роду *Streptomyces* виявилися бактерії, які містилися у складі клітинної стінки міколові кислоти (*R. erythropolis*, *Corynebacterium glutamicum*, *Tsukamurella pulmonis*). Пізніше (Asamizu та ін., 2015) було встановлено, що інактивовані клітини бактерій *T. pulmonis*, *R. erythropolis* і *Rhodococcus opacus* не індукували синтез пігментів

штамом *Streptomyces lividans*. Очевидно, міколові кислоти, локалізовані у зовнішньому шарі бактеріальних клітин, впливають на вторинний метаболізм стрептоміцетів в результаті безпосередньої взаємодії бактерій-індукторів і бактерій роду *Streptomyces*.

Зазначимо, що (Leães та ін., 2016) досліджували вплив інактивованих клітин мікроорганізмів-індукторів лише на антимікробну активність синтезованих поверхнево-активних речовин, хоча цим продуктам мікробного синтезу притаманна й антиадгезивна активність.

Наші результати показали, що за наявності бактерій-індукторів утворювалися поверхнево-активні речовини *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, які характеризувалися високою як антимікробною (табл. 1), так і антиадгезивною (табл. 5) активністю, а також здатністю до руйнування бактеріальних і дріжджових біоплівки (табл. 2—4).

У наших дослідженнях внесення клітин конкурентних мікроорганізмів у середовище культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 здійснювали як на початку процесу культивування, так і в кінці експоненційної фази росту. Це зумовлено тим, що поверхнево-активні речовини є вторинними метаболітами, синтез яких відбувається переважно у фазі сповільненого росту продуцента. Проте експерименти показали, що момент внесення бактерій-індукторів практично не впливав на біологічну активність синтезованих ПАР. Звичайно ж, з технологічної точки зору простішим є внесення інактивованих клітин індуктора на початку процесу культивування продуцента ПАР.

### Висновки

Отже, в результаті проведених досліджень встановлено можливість регуляції біологічної активності поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 внесенням у середовище культивування продуцента інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2. Важливо, що за таких умов культивування антимікробна та антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин бактерій роду *Rhodococcus* підвищується до рівня відомих у світі аміноліпідів та гліколіпідів (рамно- та софороліпідів).

### Література

Пирог, Т. П., Іванов, М. С., Ярова, Г. А. (2020). Антимікробна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. *Наукові праці НУХТ*, 27(4), 43—52. <http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/handle/123456789/36596>.

Пирог, Т. П., Скроцька, О. І., Шевчук, Т. А. (2020). Вплив біологічних індукторів на антимікробну, антиадгезивну активність та деструкцію біоплівки поверхнево-активними речовинами *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405. *Мікробіологічний журнал*, 82(3), 35—44. <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.03.035>.

Пирог, Т. П., Шевчук, Т. А., Петренко, Н. М., Палійчук, О. І., Іутинська, Г. О. (2018). Вплив умов культивування *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 на властивості синтезованих поверхнево-активних речовин. *Мікробіологічний журнал*, 80(4), 13—27. doi: <https://doi.org/10.15407/microbiolj80.04.013>.

Ahmad, V., Jamal, Q. M. S., Siddiqui, M. U., Shukla A. K., Alzohairy, M. A., Al Karaawi M. A., Kamal, M. A. (2017). Methods of screening-purification and antimicrobial potentialities of bacteriocin in health care. *Current Drug Metabolism*, 18(9), 814—830. <https://doi.org/10.2174/1389200218666170116111309>.

Alves, A. R., Sequeira, A. M., Cunha, Â. (2019). Increase in bacterial biosurfactant production by co-cultivation with biofilm-forming bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 69(1), 79—86. <https://doi.org/10.1111/lam.13169>.

Asamizu, S., Ozaki, T., Teramoto, K., Satoh, K., Onaka, H. (2015). Killing of mycolic acid-containing bacteria aborted induction of antibiotic production by *Streptomyces* in combined-culture. *PLoS One*, 6,10(11):e0142372. doi: 10.1371/journal.pone.0142372.

Bach, E., Passaglia, L. M. P., Jiao, J., Gross, H. (2022). *Burkholderia* in the genomic era: from taxonomy to the discovery of new antimicrobial secondary metabolites. *Critical Reviews in Microbiology*, 48(2), 121—160. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1946009>.

Bjerk, T. R., Severino, P., Jain, S., Marques, C., Silva, A. M., Pashirova, T., Souto, E. B. (2021). Biosurfactants: properties and applications in drug delivery. *Biotechnology and Ecotoxicology. Bioengineering (Basel)*, 8(8), 115. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8080115>.

Darbandi, A., Asadi, A., Mahdizade, Ari, M., Ohadi, E., Talebi, M., Halaj, Zadeh, M., Darb Emamie, A., Ghanavati, R., Kakanj, M. (2022). Bacteriocins: properties and potential use as antimicrobials. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(1):e24093. <https://doi.org/10.1002/jcla.24093>.

De Giani, A., Zampolli, J., Di Gennaro, P. (2022). Recent trends on biosurfactants with anti-microbial activity produced by bacteria associated with human health: different perspectives on their properties, challenges, and potential applications. *Frontiers in Microbiology*,12:655150. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.655150>.

Elshehbiny, G., Moghannem, S., Kalaba, M. (2017). Enhancement of *Streptomyces* sp. Mh-133 activity against some antibiotic resistant bacteria using biotic elicitation. *Al Azhar Bulletin of Science*, 9, 275—288. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.15327.46242>

Gomes, M. Z. V., Nitschke, M. (2012). Evaluation of rhamnolipids surfactants as agents to reduce the adhesion of *Staphylococcus aureus* to polystyrene surfaces. *Letters in Applied Microbiology*, 49(1), 960—965. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.025>

Hifnawy, M., Hassan, H. M., Mohammed, R., Fouda, M., Sayed, A. M. (2020). Induction of antibacterial metabolites by co-cultivation of two red-sea-sponge-associated Actinomycetes *Micromonospora* sp. UR56 and *Actinokinetespora* sp. EG49. *Marine Drugs*, 18(5), 243—254. <https://doi.org/10.3390/md18050243>.

Jaber, K. L., Reem, W. Y. (2014). An induction of undecylprodigiosin production from *Streptomyces coelicolor* by elicitation with microbial cells using solid state fermentation. *Iraqi Journal of Science*, 55, 1553—1562. <https://www.iasj.net/iasj/download/c865989c430112ab>

Li, B., Li, Q., Xu, Z., Zhang, N., Shen, Q., Zhang, R. (2014). Responses of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* QR9 to different soilborne fungal pathogens through the alteration of antifungal compounds production. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00636>.

Leães, F. L., Velho, R. V., Caldas, D. G., Ritter, A. C., Tsai, S. M., Brandelli, A. (2016). Expression of essential genes for biosynthesis of antimicrobial peptides of *Bacillus* is modulated by inactivated cells of target microorganisms. *Research in Microbiology*, 167(2), 83—89. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.10.005>.

Liang, L., Sproule, A., Haltli, B., Marchbank, D.H., Berru e, F., Overy, D.P., McQuillan, K., Lanteigne, M., Duncan, N., Correa, H., Kerr, R. G. (2019). Discovery of a new natural product and a deactivation of a quorum sensing system by culturing a “producer” bacterium with a heat-killed “inducer” culture. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3351. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03351>.

Liang, L., Wang, G., Haltli, B., Marchbank, D. H., Stryhn, H., Correa, H., Kerr, R. G. (2020). Metabolomic comparison and assessment of co-cultivation and a heat-killed inducer strategy in activation of cryptic biosynthetic pathways. *Journal of Natural Products*, 83(9), 2696—2705. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00621>.

Luti, K. J., Mavituna, F. (2011). Elicitation of *Streptomyces coelicolor* with dead cells of *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* in a bioreactor increases production of undecylprodigiosin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(2), 461—466. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3032-2>.

Luti, K. J. K., Yonis, R. W. (2013). Elicitation of *Pseudomonas aeruginosa* with live and dead microbial cells enhances phenazine production. *Romanian Biotechnological Letters*, 18(6), 8769—8778. [https://www.researchgate.net/publication/259582702\\_Elicitation\\_of\\_Pseudomonas\\_aeruginos\\_a\\_with\\_live\\_and\\_dead\\_microbial\\_cells\\_enhances\\_phenazine\\_production](https://www.researchgate.net/publication/259582702_Elicitation_of_Pseudomonas_aeruginos_a_with_live_and_dead_microbial_cells_enhances_phenazine_production).

Onaka, H., Mori, Y., Igarashi, Y., Furumai, T. (2011). Mycolic acid-containing bacteria induce natural-product biosynthesis in *Streptomyces* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(2), 400—406. <https://doi.org/10.1128/AEM.01337-10>.

Pirog, T., Kluchka, L., Skrotska, O., Stabnikov, V. (2020). The effect of co-cultivation of *Rhodococcus erythropolis* with other bacterial strains on biological activity of synthesized surface-active substances. *Enzyme and Microbial Technology*, 142, 109677. <https://doi.org/10.1016/j.enzmtec.2020.109677>.

Pirog, T. P., Lutsay, D. A., Kliuchka, L. V., Beregova, K. A. (2019). Antimicrobial activity of surfactants of microbial origin. *Biotechnologia Acta*, 12(1), 39—57. <https://doi.org/10.15407/biotech12.01.039>.

Pirog, T. P., Shevchuk, T. A., Voloshina, I. N., Gregirchak, N. N. (2005). Use of claydite-immobilized oil-oxidizing microbial cells for purification of water from oil. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41(1), 51—55. <https://doi.org/10.1007/s10438-005-0010-z>.

Rufino, R. D., Luna, J. M., Sarubbo, L. A., Rodrigues, L. R., Teixeira, J. A., Campos-Takaki, G. M. (2011). Antimicrobial and anti-adhesive potential of a biosurfactant Rufisan produced by *Candida lipolytica* UCP 0988. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84(1), 1—5. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.10.045>.

Srinivasan, R., Kannappan, A., Shi, C., Lin, X. (2021). Marine bacterial secondary metabolites: a treasure house for structurally unique and effective antimicrobial compounds. *Marine Drugs*, 19(10), 530. <https://doi.org/10.3390/md19100530>.