

**К.В. Авдіюк¹, Л.Д. Варбанець¹, Т.О. Філіппова², З.І. Жиліна²,
Ю.В. Ішков², О.В. Карпенко³, О.М. Шульга³**

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
бул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна

²Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Україна

³Львівське відділення Інституту фізико-органічної хімії і вуглекислоти ім. Л.М. Литвиненка НАН України

ВПЛИВ СИНТЕТИЧНИХ ПОХІДНИХ ПОРФІРИНІВ І ФЛУОРЕНУ ТА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА АКТИВНІСТЬ І БІОСИНТЕЗ α -АМІЛАЗИ *BACILLUS SUBTILIS* 147

*Вперше вивчений вплив деяких синтетичних похідних порфіринів і флуорену та поверхнево-активних речовин на біосинтез та активність α -амілази *Bacillus subtilis* 147. Показано, що досліджені сполуки викликали пригнічення як активності, так і біосинтезу даного ферменту. Лише германієвий комплекс мезо-тетрафенілпорфірин хлориду у концентрації 0,01 % і цинковий комплекс мезо-тетрафенілпорфірину у концентрації 0,1 % не впливали на синтез та активність α -амілази *B. subtilis* 147.*

Ключові слова: α -амілаза, *Bacillus subtilis*, синтетичні похідні порфіринів і флуорену, поверхнево-активні речовини.

α -Амілази (КФ 3.2.1.1; 1,4- α -D-глюкан глюканогідролази) – ферменти, що випадковим чином розщеплюють α -D-1,4-глікозидні зв'язки між сусідніми глюкозними одиницями у молекулах крохмалю, глікогену, споріднених оліго- та полісахаридів, зберігаючи α -аномерну конфігурацію продуктів реакції [20, 21]. α -Амілази належать до одних із найважливіших промислових ензимів, які широко застосовуються у харчовій промисловості, пивоварінні, хлібопеченні, крохмале-патоковому, паперовому, текстильному, спиртовому виробництв, виготовленні мийних засобів, на одному з етапів отримання біопалива та у медицині [16, 20].

З літературних даних відомо, що більшість α -амілаз є металовмісними ферментами [20], активність яких може змінюватися при внесенні до реакційної суміші сурфактантів, іонів металів тощо [18]. Раніше нами було показано, що додавання деяких координаційних сполук германію та кобальту викликали пригнічення активності та біосинтезу α -амілази *Bacillus subtilis* 147 [3, 4]. Оскільки роботами ряду дослідників [9, 12] була показана антимікробна активність синтетичних похідних порфірину щодо деяких грамположитивних і грамнегативних бактерій, метою роботи було вивчення впливу низки речовин на активність і біосинтез α -амілази *B. subtilis* 147.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження була позаклітинна α -амілаза, виділена з *B. subtilis* 147. Даний продуцент був люб'язно наданий із колекції живих культур відділу антибіотиків Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Культивування продуценту проводили на рідкому поживному середовищі Чапека з крохмалем наступного складу (г/л): NaNO_3 – 2; KH_2PO_4 – 1; KCl – 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,015; нерозчинний картопляний крохмаль – 1; соєве борошно – 10; H_2O – до 1 л; рН 7,0 [3], в 0,75 л колбах Ерленмейєра зі 100 мл поживного середовища, при інтенсивності перемішування 220 об/хв та за температури 42 °С протягом 3 діб. Біомасу відділяли центрифугуванням при 5000 г протягом 30 хв. У супернатанті культуральної рідини визначали вміст білка і α -амілазну активність.

Методи виділення і очистки α -амілази *B. subtilis* 147 включали 90 % насичення сульфатом амонію і метод афінної сорбції на крохмалі, як описано раніше [1]. Питома активність очищеного препарату α -амілази *B. subtilis* складала 43 од/мг білка.

Активність α -амілази визначали йодометричним методом відповідно ГОСТу 20264.4-89 [2].

Вміст білка визначали методом Lowry et al [2].

Як ефектори активності та біосинтезу α -амілази *B. subtilis* 147 використовували наступні речовини:

© К.В. Авдіюк, Л.Д. Варбанець, Т.О. Філіппова, З.І. Жиліна, Ю.В. Ішков, О.В. Карпенко, О.М. Шульга, 2015

а) похідні порфірину: цинковий комплекс мезо-тетра(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату (1), германієвий комплекс мезо-тетра(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату (2), мезо-тетра(N-метил-6-хінолініл)-порфірин тозилату (3), марганцевий комплекс мезо-тетра(N-метил-6-хінолініл)порфірин ацетату (4), олов'яний комплекс мезо-тетра(N-метил-6-хінолініл)-хлорин тозилату (5), германієвий комплекс мезо-тетрафенілпорфірин хлориду (6), цинковий комплекс мезо-тетрафеніл-порфірину (7), марганцевий комплекс мезо-тетра(N-метил-6-хінолініл)-порфірин тозилату (8), германієвий комплекс мезо-тетра(N-метил-6-хінолініл)-порфірин тозилату (9); олов'яний комплекс мезо-тетра(N-метил-6-хінолініл)-порфірин тозилату (10);

б) похідне флуорену: 2,7-біс-[2-(діетиламіно)-етокси]-флуорен-9-он дигідрохлорид (11);

в) поверхнево-активні речовини (ПАР): трегалозоліпід, пептидоліпід, рамноліпід.

Мезо-тетра-(4-піридил)порфірин та мезо-тетра-(6-хінолініл)порфірин синтезували за реакцією Ротмунда конденсацією піридин-4-карбальдегіду або хінолін-6-карбальдегіду з піролом згідно з методами [7, 17]. Металокомплекси одержували за методами, що описано в роботі [17]. Перетворення металокомплексів порфіринів у водорозчинну форму здійснювали кватернізацією периферійних атомів азоту гетероциклічних мезо-замісників метиловим ефіром *n*-толуолсульфо кислоти в нітрометані. Доведення складу та будови синтезованих сполук здійснювали на підставі даних елементного аналізу, електронних спектрів поглинання, ПМР-спектрів та мас-спектрометрії FAB [6, 7].

Як продуценти ПАР застосовували штами *Pseudomonas species* PS-17 (рамноліпід) [10], *Rhodococcus erythropolis* R20 (трегалозоліпід) [14], *Bacillus sp.* C14 (пептидоліпід) [8]. Культивування бактерій проводили в періодичних умовах на круговій качалці (220 об/хв) при 28 °С протягом 5 діб у колбах Ерленмейера. Культуральну рідину центрифугували при 8000 г 20 хв. Екстракцію рамноліпідів, трегалозоліпідів та пептидоліпідів проводили сумішшю Фолча (хлороформ-ізопропанол 2:1) із супернатанту, підкисленого до рН 3,0 з подальшим вакуумним випаровуванням розчинника [8, 10, 14].

У дослідах щодо впливу синтетичних похідних порфіринів і флуорену та ПАР на біосинтез і активність α -амілази *B. subtilis* 147 досліджені сполуки вносили безпосередньо до складу поживного середовища або до реакційної суміші, відповідно, в кінцевій концентрації 0,1 та 0,01%. Вирощування культури з внесеними сполуками проводили протягом 3 діб, а інкубацію очищеного ферменту з даними речовинами – протягом 30 хв за температури 37 °С.

Аналіз одержаних результатів проводили шляхом їх статистичної обробки, вираховуючи середні значення величин і стандартні похибки ($M \pm m$) [2]. Значення при $P < 0,05$ розглядали як достовірні.

Результати та їх обговорення. Результати досліджень різних вчених показали, що біосинтез α -амілаз може стимулюватися при додаванні у середовище культивування деяких сполук, таких як сурфактанти, комплексні сполуки германію та кобальту тощо [3, 4, 18, 22]. Дослідження останніх років показали здатність біогенних ПАР (біоПАР), які є нетоксичними і біодеградабельними, впливати на процеси метаболізму в клітині. Так, відомо [13], що вони можуть брати участь у транспорті різноманітних речовин через бактеріальну мембрану та у регуляції активності біологічно-активних речовин. ПАР також здатні специфічно діяти на білкові молекули, зокрема ферменти, змінювати їх конформацію, що призводить, у свою чергу, до зміни їх активності. Так, активність ліпази в присутності ПАР підвищувалася в 2-2,5 рази [13].

Здатність різноманітних мікроорганізмів поглинати із інкубаційного середовища і накопичувати у своїх клітинах природні та синтетичні порфірини, які можуть взаємодіяти як з деякими клітинними структурами, так і з іншими біополімерами, зокрема нуклеїновими кислотами, було продемонстровано дослідниками [12]. Завдяки фотосенсибілізуючим властивостям порфірини здатні проявляти антимікробну активність, а також використовуватися для боротьби з пухлинними клітинами. Однак на сьогодні майже відсутні будь-які відомості щодо впливу порфіринів на ферментативну систему мікроорганізмів, а є лише дані про їх вплив на біосинтез і активність α -L-рамнозидази *Penicillium commune* 266 [5].

Тому з метою пошуку ефективних індукторів біосинтезу та стимуляторів активності α -амілази *B. subtilis* 147 був вивчений вплив ряду похідних порфірину та флуорену, а також

сурфактантів природного походження (трегалозо-, пептидо- та рамноліпідів) на рівень синтезу і активності даного ферменту.

Вплив різних синтетичних похідних порфірину і флуорену на біосинтез α -амілази *B. subtilis* 147 відображений у табл. 1.

Таблиця 1

Вплив синтетичних похідних порфірину та флуорену на біосинтез α -амілази *B. subtilis* 147 ($M \pm m, n=5$)

Сполука, концентрація		Відносна активність α -амілази, %
Контроль		100,0
1	0,01%	30,0 \pm 1,0
	0,1%	н/д
2	0,01%	60,0 \pm 1,50
	0,1%	н/д
3	0,01%	90,0 \pm 2,60
	0,1%	40,0 \pm 1,0
4	0,01%	57,0 \pm 1,10
	0,1%	н/д
5	0,01%	60,0 \pm 1,50
	0,1%	40,0 \pm 1,0
6	0,01%	100,0 \pm 3,20
	0,1%	н/д
7	0,01%	0
	0,1%	20,0 \pm 0,50
8	0,01%	3,0 \pm 0,03
	0,1%	1,2 \pm 0,02
9	0,01%	51,0 \pm 1,50
	0,1%	0
10	0,01%	5,0 \pm 0,02
	0,1%	0
11	0,01%	92,0 \pm 1,80
	0,1%	20,0 \pm 0,50

Примітка. “н/д” – не досліджували

Вивчення дії різних синтетичних похідних порфірину на синтез α -амілази *B. subtilis* 147 показало, що майже всі досліджені сполуки інгібували біосинтез даного ферменту. Негативний ефект на продукування α -амілази мали сполуки 7, 8, 10 у обох концентраціях (0,01 та 0,1%), які викликали пригнічення біосинтезу на 80–100 %. Сполуки 1, 2, 4, 5 та 9 у концентрації 0,01 % інгібували синтез даного ферменту на 40–70%. Зростання ступеня інгібування зі збільшенням концентрації відповідної сполуки спостерігалось у випадку використання сполук 3, 9, та 11. Лише сполука 6 у концентрації 0,01 % не впливала на синтез даного ферменту.

Отже, більшість досліджених синтетичних похідних порфіринів пригнічували, хоча і в різному ступені, біосинтез α -амілази *B. subtilis* 147, однак похідне флуорену (сполука 11) у концентрації 0,01 % майже не впливало на синтез ензиму. Одержані результати відрізняються від раніше описаних щодо впливу вищезазначених сполук на біосинтез іншої глікозидази – α -L-рамнозидази *P. commune* 266, на прикладі якої вперше була вивчена дія синтетичних похідних порфіринів і флуорену на біосинтез і активність ферментів. Більшість із згаданих сполук або не впливали, або стимулювали біосинтез α -L-рамнозидази. Схожим був лише вплив похідного флуорену, коли при збільшенні його концентрації до 0,1 % спостерігалось інгібування біосинтезу α -L-рамнозидази на 40 % [5].

Додавання у поживне середовище ПАР (табл. 2) також викликало сильний інгібуючий ефект на біосинтез α -амілази *B. subtilis* 147. Так, при внесенні у середовище культивування 0,01 % трегалозо-, пептидо- і рамноліпиду спостерігали пригнічення синтезу α -амілази *B. subtilis* 147 на 85 %, 41 % і 100 %. Крім того, рамноліпід у концентрації 0,1 % інгібував продукування ферменту на 100 %.

**Вплив деяких поверхнево-активних речовин на біосинтез α -амілази
B. subtilis 147 ($M \pm m, n=5$)**

Сполука, концентрація		Відносна активність α -амілази, %
Контроль		100,0
Трегалозоліпід <i>R. erythropolis</i>	0,01%	15,0 \pm 0,20
	0,1%	н/д
Пептидоліпід <i>Bacillus</i> sp. C14	0,01%	59,0 \pm 1,30
	0,1%	н/д
Рамноліпід <i>Pseudomonas</i> sp. PS-17	0,01%	0
	0,1%	0

Примітка. “н/д” – не досліджували

Разом із тим вивчення впливу досліджених ПАР на біосинтез α -L-рамнозидизи *P. commune* 266 [5] показало, що усі сполуки у концентрації 0,01 % майже не впливали на біосинтез ферменту (ступінь інгібування становив 4–6%), однак при збільшенні їх концентрації (до 0,1 %) ступінь пригнічення зростав до 42–47%. За даними літератури, ПАР здатні по-різному впливати на біосинтез α -амілаз: стимулювати – за рахунок підвищення проникності клітинних мембран [13, 16, 17] чи пригнічувати [16].

З метою пошуку активаторів α -амілази *B. subtilis* 147 також був вивчений вплив вищезгаданих речовин на активність ферменту.

При дії синтетичних похідних порфіринів та флуорену на активність ферментного препарату *B. subtilis* 147 було показано, що у концентрації 0,01% більшість досліджуваних порфіринів пригнічували активність α -амілази (табл. 3), лише вплив сполуки 4 знаходився на рівні контролю. При збільшенні концентрації досліджуваних сполук до 0,1% ступінь інгібування зростав, за виключенням сполуки 7. Найсильніший інгібуючий вплив на активність ферменту мала сполука 3, при дії якої у обох концентраціях активність знижувалася на 85%-100%, відповідно. Крім того, значний пригнічуючий ефект на α -амілазу мали сполуки 9 і 10, які при збільшенні концентрації до 0,1%, знижували активність даного ферменту на 86%-100%.

Таблиця 3

**Вплив синтетичних похідних порфірину та флуорену на активність
 α -амілази *B. subtilis* 147 ($M \pm m, n=5$)**

Сполука, концентрація		Відносна активність α -амілази, %
Контроль		100,0
1	0,01%	90,0 \pm 1,3
	0,1%	14,0 \pm 0,17
2	0,01%	87,5 \pm 2,2
	0,1%	52,0 \pm 1,0
3	0,01%	15,0 \pm 0,3
	0,1%	0
4	0,01%	99,5 \pm 2,0
	0,1%	59,0 \pm 1,1
5	0,01%	62,0 \pm 0,8
	0,1%	27,0 \pm 0,5
7	0,01%	35,0 \pm 0,4
	0,1%	100,0 \pm 1,8
8	0,01%	91,0 \pm 1,4
	0,1%	58,0 \pm 1,1
9	0,01%	21,5 \pm 0,5
	0,1%	0
10	0,01%	15,0 \pm 0,02
	0,1%	14,0 \pm 0,3
11	0,01%	94,0 \pm 1,4
	0,1%	73,0 \pm 1,1

Досліджені ПАР пригнічували не лише біосинтез, а і активність α -амілази *B. subtilis* 147 (табл. 4). Найвищий ступінь інгібування спостерігали при додаванні до реакційної суміші трегалозоліпиду, який у концентрації 0,01% і 0,1% знижував активність α -амілази *B. subtilis* 147 на 86% і 90%, відповідно. Серед досліджених сурфактантів найменш негативний вплив на функціонування ферменту мали рамно- і пептидоліпід, які у концентрації 0,01% пригнічували активність α -амілази лише на 7% і 17%, відповідно. Однак при збільшенні їх концентрації до 0,1%, активність ферменту знижувалася до 49% і 16%, відповідно. Інгібуючий вплив біоПАР можливо пов'язаний зі зміною конформації білкової молекули у присутності даних сурфактантів [13].

Таблиця 4

Вплив деяких поверхнево-активних речовин на активність α -амілази *B. subtilis* 147 (M \pm m, n=5)

Сполука, концентрація		Відносна активність, %
Контроль		100,0
Трегалозоліпід <i>R. erythropolis</i>	0,01%	14,0 \pm 0,2
	0,1%	10,0 \pm 0,1
Пептидоліпід <i>Bacillus sp.</i> C14	0,01%	83,0 \pm 2,0
	0,1%	16,0 \pm 0,4
Рамноліпід <i>Pseudomonas sp.</i> PS-17	0,01%	93,0 \pm 1,8
	0,1%	49,0 \pm 1,1

Порівняння даних щодо впливу досліджених сполук на активність α -амілази з їх дією на активність іншої глікозидази – α -L-рамнозидази *P. commune* 266 [5] свідчить, що більшість синтетичних похідних порфіринів стимулювали активність α -L-рамнозидази, окрім похідного флуорену, який у концентрації 0,1% повністю пригнічував активність даного ферменту. Що стосується впливу поверхнево-активних речовин, було встановлено, що трегалозо- і пептидоліпід також інгібували α -L-рамнозидазу, але у меншому ступені (на 5,3%-21%), а рамноліпід підвищував (на 7,5% у концентрації 0,01%) активність даного ферменту, або зовсім не впливав (у концентрації 0,1%). На жаль, механізм дії досліджених речовин не встановлений. Можна лише припустити, що інгібуючий ефект синтетичних похідних порфірину пов'язаний з чутливістю клітин *B. subtilis* 147 до фотоіндукованої дії досліджених сполук, тобто, поглинаючи світло з певною довжиною хвилі, вони сприяють утворенню активних форм кисню, які є цитотоксичними для клітини і викликають її загибель. У роботі Русакової [11] було показано, що металокомплекси синтетичних порфіринів виявляли фунгіцидну фотосенсибілізуючу дію на клітини *Candida albicans*. Загибель частини дріжджових клітин відбувалася одразу після їх опромінення у присутності фотосенсибілізаторів. Автор [11] довела, що однією з форм загибелі клітин *C. albicans* є апоптоз. Крім того, з літературних даних відомо, що природні і синтетичні порфірини здатні повністю або частково поглинатися бактеріальними клітинами та пригнічувати їх ріст. Дані сполуки здатні також виявляти фотодинамічну і темнову активність. Так, показано [9], що порфірини з високою фотодинамічною активністю щодо тест-мікроорганізмів не виявляли темнову активність і навпаки, сполуки з високою темною активністю не здатні були фотосенсибілізувати бактеріальні клітини. Однак дане питання потребує ще подальших досліджень.

Автори висловлюють щире подяку зав. відділу інновацій та трансферу технологій, к.б.н. Сафронівій Ларисі Анатоліївні за люб'язно надану для досліджень культуру *Bacillus subtilis* 147.

**Е.В. Авдюк¹, Л.Д. Варбанец¹, Т.О. Филиппова², З.И. Жилина², Ю.В. Ишков²,
Е.В. Карпенко³, А.Н. Шульга³**

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,

²Одесский национальный университет им И.И. Мечникова, Украина

³Львовское отделение Института физико-органической химии и углехимии
им. Л.М. Литвиненка НАН Украины

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ПОРФИРИНОВ И ФЛУОРЕНА И ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА АКТИВНОСТЬ И БИОСИНТЕЗ α -АМИЛАЗЫ *BACILLUS SUBTILIS* 147

Резюме

Впервые изучено влияние некоторых синтетических производных порфиринов и флуорена и поверхностно-активных веществ на биосинтез и активность α -амилазы *Bacillus subtilis* 147. Показано, что исследованные соединения вызывали угнетение как активности, так и биосинтеза данного фермента. Только германиевый комплекс мезо-тетрафенилпорфирин хлорида в концентрации 0,01% и цинковый комплекс мезо-тетрафенилпорфирина в концентрации 0,1% не влияли на синтез и активность α -амилазы *B. subtilis* 147, соответственно.

Ключевые слова: α -амилаза, *Bacillus subtilis*, синтетические производные порфиринов и флуорена, поверхностно-активные вещества.

**K.V. Avdiyuk¹, L.D. Varbanets¹, T.O. Philippova², Z.I. Zhilina², Yu.V. Ishkov²,
E.V. Karpenko³, A.N. Shulga³**

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

²Mechnikov Odessa National University, Ukraine;

³Lviv Department of Litvinenko Institute of Physico-Organic Chemistry and Coal Chemistry,
National Academy of Sciences of Ukraine

THE INFLUENCE OF SYNTHETIC DERIVATIVES OF PORPHYRINS AND FLUORENE AND SURFACTANTS ON ACTIVITY AND BIOSYNTHESIS OF *BACILLUS SUBTILIS* 147 ALPHA-AMYLASE

Summary

For the first time the effect of certain synthetic derivatives of porphyrins and fluorene and surfactants on the biosynthesis and α -amylase activity of *Bacillus subtilis* 147 was studied. It is shown that the test compounds inhibited the both activity and biosynthesis of the enzyme. Only germanium complex of meso-tetraphenylporphyrin chloride at a concentration of 0,01%, and zinc complex of meso-tetraphenyl porphyrin at a concentration of 0,1% did not affect on the synthesis and activity of *B. subtilis* 147 α -amylase, respectively.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: α -amylase, *Bacillus subtilis*, synthetic porfirine and fluorene derivatives, surfactants.

The author's address: Avdiyuk K.V., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. Авдюк Е.В., Варбанец Л.Д., Сафронова Л.А., Харкевич Е.С. Очистка α -амилазы *Aspergillus flavus* var. *oryzae* и *Bacillus subtilis* и их свойства // Биотехнологія. – 2012. – 5, № 5. – С. 91-99.
2. Варбанець Л.Д., Борзова Н.В. Глікозидази мікроорганізмів і методи їх дослідження. – К.: Наукова думка, 2010. – 440 с.
3. Варбанець Л.Д., Мацелюх О.В., Нідялкова Н.А., Авдюк К.В., Гузьенко О.В., Сейфулліна І.Й., Масановець Г.М., Хитрич М.В. Використання координаційних сполук кобальту (II, III) з похідними дитіокарбамової кислоти для підвищення активності ферментів гідролітичної дії (пептидаз, амілаз, рамнозидаз) // Biotechnologia Acta. – 2013. – 6, № 1. – С. 22 – 29.
4. Варбанець Л.Д., Рзаєва О.Н., Мишак Е.В., Сейфулліна І.И., Марцінко Е.Э., Песарогло А.Г. Влияние координационных соединений германия на активность ряда гликозидаз // Микробиол. журн. – 2007. – 69, № 3. – С. 11-19.

5. Варбанець Л.Д., Рзаєва О.М., Сейфулліна І.Й., Марцінко О.Е., Песароголо О.Г., Філіппова Т.О., Жиліна З.І., Ішков Ю.В., Карпенко О.В., Шульга О.М. Індукція синтезу та активація α -L-рамнозидази // Укр. Біохім. журн. – 2007. – **79**, № 4. – С. 19-29.
6. Водзинский С.В., Жилина З.И., Петренко Н.Ф., Андронати С.А., Грушевая Ж.В. Порфирины и их производные. IX. Синтез и свойства водорастворимых изомерных хиолинпорфиринов // Журн. Органич. химии. – 1989. – **25**, № 7. – С. 1529-1533.
7. Водзинський С.В., Маліновський В.Л., Жиліна З.І., Мазепа А.В., Андронати С.А. Олов'яні та германієві комплекси водорозчинних порфіринів // Укр. хім. журн. – 1997. – **63**, № 1. – С. 43-48.
8. Елисеєв С.А., Шульга А.Н., Карпенко Е.В. Особенности биосинтеза поверхностно-активных липидов культурой *Bacillus* sp. // Микробиол. журн. – 1990. – **52**, № 3. – С. 41-44.
9. Зінченко О.Ю. Антибактеріальна активність синтетичних порфіринів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 2006. – 20 с.
10. Патент України №71222. Поверхнево-активний біопрепарат. / Карпенко О.В., Марцінюк Н.Б., Шульга О.М. – Опубл. 2004. Бюл. №12.
11. Русакова М.Ю. Характеристика антифунгальної активності синтетичних порфіринів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Харків, 2008. – 20 с.
12. Філіппова Т.О., Галкин Б.Н., Зинченко О.Ю., Русакова М.Ю., Жилина З.И., Водзинский С.Ю., Ишков Ю.В. Взаимодействие микроорганизмов с природными и синтетическими порфиринами // Вестник ОНУ. – 2001. – **6**, №4. – С. 317-321.
13. Хворостецький Р.О., Шульга О.М., Туровський А.А. Вплив поверхнево-активних речовин на активність ліпази при різних значеннях рН і температури // Збірник тез III міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології”. Львів. – 23-27 квітня 2007. – С. 377-378.
14. Шульга А.Н., Карпенко Е.В., Елисеєв С.А., Коронелли Т.В. Внеклеточные липиды и поверхностно-активные свойства *Rhodococcus erythropolis* при росте на разных источниках углерода // Микробиология. – 1990. – **59**, №3. – С. 296-300.
15. Bhardwaj S., Vedamurthy A.B., Bhattacharya S., Das A. Effect of inorganic salts and surfactants on the production of α -amylase by a mangrove isolate of *Aspergillus flavus* using solid-state fermentation // J. Chem. Biol. Phys. Sci.; Section B: biological sciences. – 2012. – **2**, N 3. – P. 1390-1397.
16. Das S., Singh S., Sharma V., Soni M.L. Biotechnological applications of industrially important amylase enzyme // Int. J. Pharm. Bio Sci. – 2011. – **2**, N 1. – P.486-496.
17. Fleischer E.B. α , β , γ , δ -Tetra(4-pyridyl)porphine and some its metal complexes // Inorg. Chem. – 1962. – **1**, N 3. – P. 493-495.
18. Ikram-ul Haq, Shamim N., Ashraf H., Ali S., Qadeer M.A. Effect of surfactants on the biosynthesis of alpha amylase by *Bacillus subtilis* GCBM-25 // Pak. J. Bot. – 2005. – **37**, N 2. – P. 373-379.
19. Irfan M., Nadeem M., Syed Q. Media optimization for amylase production in solid state fermentation of wheat bran by fungal strains // J. Cell Mol. Biol. – 2012. – **10**, N 1. – P. 55-64.
20. Mojsov K. Microbial α -amylases and their industrial applications: a review // Int. J. Manag. IT Eng. – 2012. – **2**, N 10. – P. 583-609.
21. Sivaramakrishnan S., Gangadharan D., Nampoothiri K.M., Soccol C.R., Pandey A. α -Amylases from microbial sources – an overview on recent developments // Food Technol. Biotechnol. – 2006. – **44**, N 2. – P. 173-184.
22. Zeng G.-M., Shi J.-G., Yuan X.Z., Liu J. Effects of Tween 80 and rhamnolipid on the extracellular enzymes of *Penicillium simplicissimum* isolated from compost // Enzyme Microb. Tech. – 2006. – **39**, N 7. – P. 1451-1456.

Отримано 13.05.2014