

16+

ISSN 2304-4691

Актуальная биотехнология



№1

2023

ISSN 2304-4691

**Основан в 2012г.
г. Воронеж**

Актуальная биотехнология

№ 1

2023



Учредитель: ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Главный редактор
д.б.н., профессор О.С. Корнеева

Редакционный совет
д.б.н., профессор Ф.К. Алимова
д.т.н., профессор В.В. Бирюков
д.т.н., профессор Л.А. Иванова
д.б.н., профессор Л.П. Лазурина
д.б.н., профессор Е.Г. Новосёлова
д.х.н., профессор Т.В. Овчинникова
д.т.н., профессор А.Н. Остриков
д.т.н., Член-Корр. РАСХН Л.В. Римарева

Журнал «Актуальная биотехнология» выходит 4 раза в год

Официальный сайт «Актуальная биотехнология» www.actbio-vsuet.ru
Подписной индекс издания в агентстве "Роспечать" 58012

Ответственный секретарь: ДЕРКАНОСОВА А.А. (эл. почта: post@actbio-vsuet.ru)

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций:
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-83978 от 21 сентября 2022 г.

Адрес университета, редакции, издательства и отдела полиграфии ФГБОУ ВО «ВГУИТ»

394036, Воронеж, пр. Революции д.19 ауд.11

тел./факс: (473) 255-37-16

E-mail: post@actbio-vsuet.ru

Сдано в набор 14.10.2023. Подписано в печать 30.10.2023

Выход в свет: 01.11.2023

Усл. печ. л. 10,65 Тираж 500 экз. Заказ.

Цена – свободная.

© ФГБОУ ВО

«Воронеж. гос. ун-т инж.
технол.», 2023

Содержание

МАТЕРИАЛЫ XI МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «БИОТЕХНОЛОГИЯ: НАУКА И ПРАКТИКА»

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОЙ ФИТАЗЫ НА ОСНОВЕ YARROWIA LIPOLYTICA С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ	
Е.А. Овсейчик, О.И. Кляйн, Н.Н. Гесслер, Ю.И. Дерябина, Е.П. Исакова	5
ФАГОВЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ	
О.А. Караваева ¹ , С.С. Евстигнеева ¹ , А.В. Мартыненко ² , О.И. Гулий ¹	7
ПЕРСПЕКТИВЫ АКУСТИЧЕСКИХ СЕНСОРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ	
О.И. Гулий ¹ , Б.Д. Зайцев ² , О.А. Караваева ¹ , А.В. Мартыненко ³ , И.А. Бородин ²	8
ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА НА ФОНЕ ЭНЗИМСОДЕРЖАЩЕГО РАЦИОНА	
К.С. Нечитайло ^{1,2} , Е.А. Сизова ^{1,2}	10
ОТБОР ШТАММОВ BACILLUS SPP. ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЖИВОТНОВОДСТВА	
Д.Е. Дудник, А.Н., Иркитова, А.В. Малкова, Е.Н. Каргашилова	16
ОСОБЕННОСТИ ОБОГАЩЕНИЯ СЕЛЕНОМ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ЯСНОТКОВЫЕ (LAMIACEAE) С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ	
П.В. Масленников, П.В. Федурев, Т.В. Стыран, С.А. Небрева, Л.Н. Скрыпник	19
КОМПЛЕКСНАЯ БИОКАТАЛИТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ АГРОПРОИЗВОДСТВА С ПОЛУЧЕНИЕМ УДОБРЕНИЙ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК, ОБОГАЩЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ	
В.П. Молчанов, Ю.Ю. Косицков, Е.А. Виноградова, М.Г. Сульман	22
ГРАНУЛЫ НА ОСНОВЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРОВ С БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ ДЛЯ БОРЬБЫ С КАРТОФЕЛЬНОЙ НЕМАТОДОЙ GLOBOIDERA ROSTOSCHIENSIS	
А.А. Суханова ¹ , А.Н. Бояндин ¹ , Н.Л. Ертышечкина ¹ , А.А. Чураков ²	25
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ НИЗКОЧАСТОТНОЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА БИОКОНВЕРСИЮ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ОТХОДОВ ЗАГОТОВКИ ЛЬНА	
Е.В. Ожимкова, В.В. Орлов	29
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УСЛОВИЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ОБРАБОТКИ ЯГОД ЧЕРНИКИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ СОКА	
Н.Ю. Каримова, Е.В. Алексеев, Ю.З. Горьковская	30
БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОМБИНИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО И СПЕЦИФИЦИТАЦИИ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ	
Е.И. Курбатова, Е.В. Костылева, А.С. Середа, Н.В. Пурикова	33
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ВНУТРЕННОСТЕЙ РЫБ В ТЕХНОЛОГИЯХ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ	
Т.Н. Данильчук, А.В. Югай, В.В. Ахметьева, Д.В. Новикова	35
ИНФОРМАЦИОННО-СОВЕТУЮЩАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ НА ПРИМЕРЕ РЕЦЕПТУР ПЛАВЛЕННЫХ СЫРОВ	
О.Н. Мусина ^{1,2} , Е.М. Нагорных ²	38
ФЕРМЕНТАЦИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР СТАРТЕРНЫМИ И ПРОБИОТИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ	
К.В. Моисеев ¹ , Е.О. Ландесман ¹ , И.В. Рожкова ² , Т.В. Федорова ¹	42
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В АКТИВНОЙ УПАКОВКЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	
А.В. Борисова	43
ПРИМЕНЕНИЕ ПУЧКОВ УСКОРЕННЫХ ЭЛЕКТРОНОВ ДЛЯ ОБРАБОТКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ	
С.А. Золотов ^{1,2} , У.А. Близинок ^{1,2} , А.П. Черняев ^{1,2} , Ф.Р. Студеникин ^{1,2} , П.Ю. Борщевская ^{1,2} , А.Д. Никитченко ¹ , Н.Д. Кречетов ¹ , С.А. Соколов ¹ , И.А. Родин ^{1,3}	45
ИССЛЕДОВАНИЕ ДОЗОВЫХ ЗАВИСИМОСТЕЙ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ОКИСЛЕНИЯ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПОСЛЕ РАДИАЦИОННОЙ ОБРАБОТКИ	
О.Ю. Хмелевский ¹ , У.А. Близинок ^{1,2} , П.Ю. Борщевская ^{1,2} , В.С. Ипатов ² , А.Д. Никитченко ¹ , Т.А. Болотник ¹ , С.А. Золотов ^{1,2} , А.П. Черняев ^{1,2} , Д.С. Юров ² , И.А. Родин ^{1,3}	49
ОПЫТ ИНФОРМАЦИОННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ОСНОВНОЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ПО НАПРАВЛЕНИЮ «БИОТЕХНОЛОГИЯ»	
Р.Р. Биглов, А.С. Кузнецов	51
КЛОНИРОВАНИЕ ФРАГМЕНТОВ КДНК ГЕНА ТИРЕОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА	
А.В. Зубков, А.А. Корноухова, Н.С. Кузьмина, А.В. Сидоров, Л.Г. Бутова, О.А. Свитич	53
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ВАКЦИН ПРОТИВ ЦЕНУРОЗА	
Е.А. Колосова, П.В. Колосов, Ю.А. Меркульева, Д.Н. Щербаков	57
ИССЛЕДОВАНИЕ АВТОНОМНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ SH3-ДОМЕНА	
К.С. Никольский, Л.И. Куликова, Д.В. Петровский, В.Р. Руднев, А.Л. Кайшева	59
ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА И МЕТИЛАМИНА ТИПОВЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА HANSSCHLEGELIA	
Н.В. Агафонова	61
ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ АМАРАНТА В КОРМОПРОИЗВОДСТВЕ ПТИЦ	
С.В. Образцова, О.В. Бондарева, Т.В. Свиридова, О.С. Корнеева	62
БИОМИМЕТИЧЕСКОЕ ИНКАПСУЛИРОВАНИЕ И БИОСОВМЕСТИМЫЕ ПОЛИМЕРЫ – ГИДРОГЕЛИ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ	
О.Н. Пономарева ¹ , Д.Г. Лаврова ¹ , А.Н. Звонарев ² , Т.Г. Хонина ³ , В.А. Алферов ¹	63
МИКРОВОДОРОСЛИ КАК ОБЪЕКТ МАССОВОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	
А.А. Дерканосова, С. Ншмиримана, А.В. Дранников, И.С. Косенко, А.В. Алехина	65
РАЗРАБОТКА СЕЛЕКЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СОРТОВ РИСА С ВЫСОКИМ ПИЩЕВЫМ КАЧЕСТВОМ ЗЕРНА	
Е.Г. Савенко, С.В. Горюнова, Ж.М. Мухина, В.А. Глазырина, Л.А. Шундрица	66

УДК 636.5.034

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНКАПСУЛИРОВАННОЙ ФИТАЗЫ НА ОСНОВЕ *YARROWIA LIPOLYTICA* С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ**Е.А. Овсейчик, О.И. Кляйн, Н.Н. Гесслер, Ю.И. Дерябина, Е.П. Исакова***Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

В настоящее время во всем мире увеличивается потребность населения в диетическом мясе, что способствует динамичному развитию новой отрасли птицеводства перепеловодства, которое является одним из источников удовлетворения потребности людей в такой птицеводческой продукции как яйца и мясо перепелов. Мясо этой птицы отличается нежной консистенцией, сочностью и ароматом [1]. Особенностью данного вида птицы является высокая яичная продуктивность и быстрая скороспелость. Самки начинают кладку яиц в возрасте 35–40 дней и за год дают до 250–280 яиц. При этом расход корма на 1 кг яичной массы в среднем составляет 2,8 – 3,1 кг, а масса яиц, снесенных самкой за 1 год, в 24 раза превышает массу тела самой самки, тогда как у лучших пород кур это соотношение равно 1:8 [2]. Наибольшее развитие яичное направление перепеловодства получило в Японии и странах Дальнего Востока, где перепелиные яйца в основном используют для лечебного и диетического питания [3], в то время как в странах Европы наиболее развито мясное направление перепеловодства.

Для получения высоких показателей продуктивности сельскохозяйственной птицы, в том числе и перепелов, необходимо использовать сбалансированные корма, важной составляющей частью которых является фосфор. В клетках всех живых организмов фосфор присутствует как в виде орто- и пирогосфатов, так и в составе фосфопротеинов, фосфолипидов, нуклеиновых кислот, гексозофосфатов и др. У позвоночных животных фосфор наряду с кальцием входит в состав костной ткани. Основной формой органического депо фосфора растительных компонентов кормов птицы является мио-инозитол гексакисфосфорная или фитиновая кислота – производное мио-инозитола, циклического спирта, фосфорилированного по всем 6 гидроксильным группам [4]. Фосфор фитатов, а также мио-инозитол становятся доступными для усвоения только после отщепления фосфата под действием ферментов фитаз [5]. В зернах хлебных злаков и бобовых, семенах масличных культур, которые и составляют основу кормов, их содержится 60–88 % от общего фосфора. Вследствие отсутствия фитаз в пищеварительных секретах моногастричных животных основная часть фосфора, входящего в состав растительных кормов, не усваивается организмом. В свою очередь недостаток фосфора приводит к выраженным нарушениям в формировании скелета животных. В последнее время все большее внимание уделяется использованию различных препаратов фитазы в кормлении сельскохозяйственной птицы [6]. Однако, при прохождении таких препаратов через желудочно-кишечный тракт птицы происходят существенные потери фермента вследствие кислотной денатурации и протеолиза. Технология инкапсуляции фитазы в клетках дрожжей-продуцентов в качестве микроконтейнеров позволяет существенно сократить потери этого фермента, а также увеличить его термостабильность. Экстремофильные дрожжи *Yarrowia lipolytica* являются перспективным объектом современной биотехнологии, в частности, для получения инкапсулированной фитазы главным образом за счет полного сиквенса ее генома и наличия специального инструментария, позволяющего создавать высокоэффективные штаммы-продуценты рекомбинантных белков.

Целью представленной работы является проведение экспериментальных исследований на перепелах по использованию пищевых добавок микроинкапсулированной фитазы *Obessumbacterium proteus* в дозе 500 FYT/кг корма на базе рекомбинантного продуцента *Y. lipolytica* Polf pUV3-Op в рационах птицы и изучение влияния этих добавок на продуктивность молодняка и взрослых перепелов. Исследование проводили на базе СГЦ «Загорское ЭПХ» – филиала ФНЦ «ВНИТИП» РАН. Объектом исследования являлись перепела породы маньчжурские золотистые. Корма для экспериментальных животных были изготовлены из растительного сырья (кукуруза, пшеница, соевый шрот, соя полножирная, подсолнечный жмых, витаминный премикс с добавлением синтетических кормовых аминокислот лизина, метионина и треонина, но без использования сырья животного происхождения).

Содержание общего фосфора во всех трёх типах корма составляло 0,6 г/кг корма, а содержание доступного фосфора – 0,35–0,45 % г/кг корма, что было на 20–25 % ниже рекомендованных для перепелов значений. В ходе эксперимента, в суточном возрасте, было сформировано 6 групп перепелов по 25 голов в каждой, которые получали следующие типы корма: контрольная группа 1 –

корм с содержанием общего фосфора 0,8 % (0,45 % доступного фосфора) без добавок; контрольная группа 2 – корм с содержанием общего фосфора 0,6 % (0,35 % доступного фосфора) без добавок; опытная группа 3 – корм с добавкой микроинкапсулированной фитазы *O. proteus* в дозе 500 FYT/кг корма и содержанием общего фосфора 0,6 % (0,35 % доступного фосфора); опытная группа 4 – корм с добавкой микроинкапсулированной фитазы *O. proteus* в дозе 500 FYT/кг корма и содержанием общего фосфора 0,8 % (0,45 % доступного фосфора); опытная группа 5 – корм с добавкой, содержащей искусственно внесенную коммерческую фитазу Ладозим прокси из *Aspergillus ficuum* в дозе 4500 FYT/кг корма и содержанием общего фосфора 0,8 % (0,45 % доступного фосфора); опытная группа 6 – корм с добавкой, содержащей искусственно внесенную коммерческую фитазу Ладозим прокси из *A. ficuum* в дозе 4500 FYT/кг корма и содержанием общего фосфора 0,6 % (0,35 % доступного фосфора).

В ходе исследований было установлено, что выращивание и содержание перепелов на рационах с использованием пищевых добавок микроинкапсулированной фитазы *O. proteus* в дозе 500 FYT/кг корма на базе рекомбинантного продуцента *Y. lipolytica* оказало положительное влияние на продуктивность молодняка и взрослых перепелов. Самая высокая живая масса перепелов в 42-дневном возрасте – 218,1 г была получена в группе 4, что было на 0,2 и 1,2 % выше, по сравнению с контрольными группами 1 и 2, а также на 3,3 и 5,5 % выше, чем в группах 5 и 6, соответственно. Наиболее низкие затраты корма на 1 кг прироста живой массы были отмечены у молодняка в опытной группе 4. В этой группе по сравнению с контрольными группами 1 и 2 затраты корма были ниже на 0,5 и 1,8 %, а по сравнению с опытными группами 5 и 6, затраты корма в группе 4 были ниже на 3,6 и 4,1 %. Затраты корма у взрослой птицы в опытной группе 4, по сравнению с контрольными группами 1 и 2 и опытными группами 5 и 6, были ниже на 3,5 и 9,0 % и 8,2 и 9,3 %, соответственно.

Масса потрошеной тушки в опытной группе 4 по сравнению с контрольными группами 1 и 2 была выше на 2,6 и 2,8 %, соответственно. По отношению к опытной группе 5 опытная группа 4 была достоверно выше на 6,6 % (при $p \leq 0,05$), а к опытной группе 6 – на 9,9 % (при $p \leq 0,001$). Опытная группа 3 по средней массе потрошеной тушки незначительно уступала контрольным группам 1 и 2, а также опытной группе 4. Однако по сравнению с опытными группами 5 и 6, показатели этой группы были выше на 2,6 и 5,8 %. Соответственно, с учетом высокой массы и упитанности тушек, убойный выход в опытной группе 4 был выше по сравнению с контрольными группами 1 и 2 на 0,7 и 1,1 %, а по сравнению с опытными группами 5 и 6 – на 2,2 и 2,6 %. Опытная группа 3 по этому показателю превышала опытные группы 5 и 6 на 0,8 и 1,2 %, соответственно. Существенных различий по массе и состоянию внутренних органов, а также по химическому составу мяса в группах, отмечено не было. Наиболее высокая интенсивность яйценоскости перепелов была выявлена в опытной группе 4, где она составила 86,8 %. При этом опытная группа 4 по сравнению с контрольными группами 1 и 2 и опытными группами 5 и 6 была по этому показателю выше на 9,7 и 13,2 % и 11,8 и 9,0 %, соответственно. Сохранность молодняка и взрослой птицы, во всех группах, была на уровне 100 %. Падежа птицы во всех исследуемых группах не наблюдалось, что свидетельствует о безопасности применения изучаемых препаратов фитазы в рационах перепелов.

На основании полученных данных можно сделать вывод о высокой целесообразности и перспективности применения в кормлении добавок на основе микроинкапсулированной фитазы *O. proteus*, обладающей наилучшими кинетическими характеристиками по сравнению с грибными фитазами при работе в желудочно-кишечном тракте птицы.

**Работа поддержана Российским научным фондом, соглашение
№ 22-16-00093 от 12 мая 2022 года.**

Литература

1. Лисунова Л.И. Перепеловодство – это выгодно /Л.И. Лисунова, В.С. Токарев // Наше сельское хозяйство. – 2021. – № 4 (252). – С. 79–81.
2. Овсейчик Е.А. Продуктивные качества перепелов эстонской породы при разном половом соотношении / Е.А. Овсейчик // Материалы 54-й конференции молодых ученых и аспирантов по птицеводству. Сергиев Посад, 2013, с. 56–60.
3. Стефанова И.Л. Мясо перепелов в питании детей раннего возраста. / И.Л. Стефанова, В.В. Гуцин, М.А. Юхина // Птица и птицепродукты. – 2006. – № 3. С. 57–59.
4. Maga J.A. // J. Agric. Food Chem. 1982. V. 30. № 1.P. 1–9; Raboy V. // Phytochem. 2003. V. 64. № 6. P. 1033–1043.
5. Oster M, Reyer H, Trakooljil N, Weber FM, Xi L, Muráni E, Ponsuksili S, Rodehutschord M, Bennewitz J, Wimmers K. Ileal Transcriptome Profiles of Japanese Quail Divergent in Phosphorus Utilization. Int J Mol Sci. 2020 Apr 16; 21(8):2762.
6. Egorov I.A., Vertiprakhov V.G., Lenkova T.N., Manukyan V.A., Egorova T.A., Grozina A.A. The effects of diets supplemented with phytase on the productive performance, biochemical and morphological blood indices in broilers and layers of broiler preparental lines // Bioscience research. – 2020. – Vol. 17. – No 4. – P. 2465–2471.

УДК 579.6

ФАГОВЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ**О.А. Караваева¹, С.С. Евстигнеева¹, А.В. Мартыненко², О.И. Гулий¹***Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН),
Саратов, 410049, Россия**Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, 410012, Россия*

Фаговый дисплей антител, позволяющий получать антитела к низкомолекулярным антигенам (гаптенам), является перспективной методикой для развития сенсорных систем при определении антибактериальных препаратов. С момента получения первых антител на поверхности фагов интерес к применению фагового дисплея неуклонно растет [1, 2]. Неконтролируемое применение антибиотиков, в том числе канамицина, приводит не только к повышению устойчивости бактерий к нему, но и вызывает накопление остатков канамицина в воде. Канамицин угрожает здоровью человека, поскольку он может накапливаться в организме и характеризуется потенциальной ототоксичностью и нефротоксичностью [3, 4], поэтому контроль содержания канамицина в воде и развитие методов для его определения представляет особый интерес. Наиболее распространенным вариантом получения антител, обладающих специфичностью к конкретному антигену, является иммунизация животных. Альтернативным методом получения специфичных антител, не требующим иммунизации животных, является технология фагового дисплея. Технология фагового дисплея обеспечивает быструю и экономичную наработку антител с использованием нитевидного фага [5–7]. Производство рекомбинантных антител включает несколько этапов, но все они проводятся *in vitro* и отсутствует необходимость проведения экспериментов с привлечением животных. Это основное и важное преимущество данной технологии по сравнению с традиционными методами получения антител. Еще одним преимуществом фагового дисплея является меньшее время, необходимое для продукции антител. Это делает фаговый дисплей эффективным в долгосрочной перспективе.

В работе с использованием овечьей дисплейной библиотеки фрагментов scFv (Griffin.1) получены рекомбинантные антитела, специфичные к канамицину и показана возможность их использования для определения канамицина методом дот-иммуноанализа. Показано, что минимальная определяемая концентрация канамицина составляет 1 мкг/мл (различимое связывание метки, отличное от фонового уровня) [8]. Установлено, что антиканамициновые фаговые антитела обладали специфичностью в отношении канамицина и не взаимодействовали с другими антибиотиками (неомицином, тетрациклином, ампициллином, гентамицином). Антиканамициновые фаговые антитела являются перспективной альтернативой моноклональным антителам для использования при определении канамицина.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22–24–00417.

Литература

1. Zhao H., Nie D., Hu Y., Chen Z., Hou Z., Li M., Xue X. // *Molecules*. 2023, 28, 2621. <https://doi.org/10.3390/molecules28062621>.
2. Mahdavi S.Z.B., Oroojalian F., Eyvazi S., Hejazi M., Baradaran B., Pouladi N. et al. // *Int J Biol Macromol*. 2022, 208, 421–442. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.113>.
3. Jiang M., Karasawa T., Steyger P.S. // *Front. Cell Neurosci*. 2017, 11, 308. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00308>.
4. Shavit M., Pokrovskaya V., Belakhov V., Baasov T. // *Bioorg. Med. Chem*. 2017, 25, 2917–2925. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.02.068>.
5. Smith G.P. // *Science*. 1985, 228, 1315–1317. <https://doi.org/10.1126/science.4001944> 5.
6. McCafferty J., Griffiths A.D., Winter G., Chiswell D.J. // *Nature*. 1990, 348, 552–554. <https://doi.org/10.1038/348552a0> 6.
7. Smith G.P., Petrenko V.A. // *Chem. Rev*. 1997, 97, 391–410. <https://doi.org/10.1021/cr960065d>.
8. Гулий О.И., Евстигнеева С.С., Староверов С.А., Фомин А.С., Караваева О.А. // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2023, 59 (5), 512–519. doi: 10.31857/S0555109923050070.

**ПЕРСПЕКТИВЫ АКУСТИЧЕСКИХ СЕНСОРНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ****О.И. Гулий¹, Б.Д. Зайцев², О.А. Караваева¹, А.В. Мартыненко³, И.А. Бородина²***Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН),
Саратов, 410049, Россия**Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, Саратовский филиал, Саратов, 410019, Россия
Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов,
410012, Россия*

Широкая распространенность инфекционных заболеваний обуславливает активное применение антимикробных лекарственных средств, среди которых наиболее значимыми являются антибактериальные препараты. Применение антибиотиков стало настоящей революцией в лечении инфекционных заболеваний, но в дальнейшем это привело не только к появлению антибактериальных препаратов и продуктов их деградации в объектах окружающей среды, но и к развитию антибиотикорезистентности бактерий (способность бактерий адаптироваться к воздействию антимикробных препаратов). Появление антибиотиков в окружающей среде (особенно в водной среде) стимулирует развитие новых методов контроля антибактериальных препаратов в продуктах питания, сточных водах фармацевтических предприятий и других объектах. Для определения антибиотиков применяют микробиологические, спектрофотометрические, флуориметрические, хемилюминесцентные, различные варианты хроматографических методов, в том числе высокоэффективную жидкостную хроматографию и хромато-масс-спектрометрию, инверсионную вольтамперометрию, электроаналитическое определение с модифицированными электродами, а также биосенсорные методы. Биосенсорные методы анализа активно развиваются в последнее время и являются неотъемлемой частью экологического мониторинга окружающей среды. Одним из перспективных направлений сенсорных методов определения антибиотиков являются акустические сенсорные системы.

Акустические датчики, будучи очень чувствительными, имеют преимущество перед датчиками других типов, поскольку они могут обнаруживать изменения как механических параметров (плотность, упругость, вязкость), так и электрических свойств (диэлектрическая проницаемость, проводимость) среды, в отличие от других микросенсорных устройств, которые следят за изменением только одного физического параметра. Акустические датчики измеряют изменения в характеристиках акустических волн (таких как скорость, затухание, частота) при их распространении в пьезоэлектрическом кристалле, контактирующем с исследуемой средой. Акустические биосенсоры используют пьезоактивные акустические волны для создания аналитического сигнала. Принцип действия электроакустических методов анализа основан на регистрации биоспецифических реакций в жидкой суспензии, контактирующей с поверхностью пьезоэлектрического звукопровода, по которому распространяется пьезоактивная акустическая волна. В последнее время для создания акустических биосенсоров широко используются пьезоэлектрические резонаторы или линии задержки с распространяющейся поверхностной или пластинчатой акустической волной. Такие сенсоры чувствительны к изменению механических или электрических свойств биологического объекта, контактирующего с поверхностью звукопровода. Акустические биосенсоры чаще всего выполнены на основе таких пьезоэлектрических кристаллов, как кварц, ниобат лития, или танталат лития, поскольку они характеризуются высокой химической устойчивостью. Акустические волны, возбуждаемые в пьезоэлектрической среде, позволяют создать целое семейство датчиков, характеризующихся высокой чувствительностью, быстротой проведения анализа, дешевизной, и небольшими размерами [1]. До недавнего времени акустические датчики не применялись для определения антибиотиков и первое упоминание о возможности их применения для оценки воздействия антибактериальных препаратов на бактерии приведено в работе [2]. Перспективность применения датчика на основе резонатора с поперечным электрическим полем с помощью микробных клеток для определения антибиотиков непосредственно в жидкости показана на примере канамицина [3] и полимиксина [4].

На основе резонатора с поперечным электрическим полем разработан компактный акустический анализатор для экспресс-анализа антибиотиков на примере хлорамфеникола в водном растворе. Анализирующая часть устройства включает цифровой генератор сигнала и управляющий микроконтроллер, который соединяется с персональным компьютером. В качестве сенсорного элемента использовали бактериальные клетки, чувствительные к определяемому антибиотику. Установлена корреляция экспериментальных данных, полученных с помощью акустического датчика с результатами, полученными с помощью световой фазово-контрастной микроскопии и стандартного микробиологического анализа. Представленный способ демонстрирует стабильность, чувствительность и повторяемость результатов [5].

Биологические тест-системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем с использованием бактерий в качестве сенсорного элемента являются весьма перспективными для экспресс-анализа антибиотиков и позволяют определять низкие концентрации антибиотика непосредственно в жидкости без необходимости иммобилизации компонентов анализа. Дополнительным преимуществом предлагаемых датчиков является возможность их многократного использования, из-за чего отсутствует необходимость в подборе условий для утилизации тест-систем после проведения анализа. Дальнейшая стандартизация и автоматизация акустических сенсорных систем позволит расширить круг их применения и использования в микробиологии, биотехнологии, ветеринарии, медицине, защите окружающей среды.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-29-00587.

Литература

1. Gözde Durmuş, N.; Linb, R.L.; Kozberge, M.; Dermicid, D.; Khademhosseini, A.; Demirci, U. Acoustic-based biosensors. In Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics; Springer Science + Business Media: New York, NY, USA, 2014. doi 10.1007/978-3-642-27758-0_10-2.
2. Gruhl, F.J.; Länge, K. Surface acoustic wave (SAW) biosensor for rapid and label-free detection of penicillin G in milk. Food Anal. Methods 2014, 7, 430–437. doi: 10.1007/s12161-013-9642-4.
3. Guliy O.I., Zaitsev B.D., Semyonov A.P., Alsowaidi A.K.M., Teplykh A.A., Karavaeva O.A., Borodina I.A. Microbial acoustic sensor test-system based on a piezoelectric resonator with a lateral electric field for kanamycin detection in liquid. Ultrasonics 2022, 120, 106651. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2021.106651>.
4. Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Шихабудинов А.М., Бородин И.А., Ларионова О.С., Жничкова Е.Г. Определение чувствительности микробных клеток к полимиксину методом электроакустического анализа. Антибиотики и химиотерапия 2017, 62 (3–4), 3–9. doi 10.24411/0235-2990-2017-00031.
5. Zaitsev B., Borodina I., Alsowaidi A., Karavaeva O., Teplykh A., Guliy O. Microbial Acoustical Analyzer for Antibiotic Indication. Sensors 2022, 22, 2937. <https://doi.org/10.3390/s22082937>.

**ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА НА ФОНЕ
ЭНЗИМСОДЕРЖАЩЕГО РАЦИОНА****К.С. Нечитайло^{1,2}, Е.А. Сизова^{1,2}***ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН», Оренбург, Россия
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»***Введение**

В промышленном птицеводстве корм является основополагающим фактором, (преимущественно до 70 %) определяющим конечную стоимость продукции. Оптимальный баланс питательных веществ является основным фактором устойчивого производства животного белка, поскольку обеспечивает максимальное использование нутриентов при их минимальном выведении [4]. В существующих экономических реалиях, птицеводы вынуждены использовать более дешевые кормовые ингредиенты, в результате снижается не только затраты, но и конечный выход продукции. При этом, в подобных компонентах содержится большое количество антипитательных факторов, таких как фитиновая кислота, ксилан, β -глюкан, оказывающих негативное влияние на полноценное высвобождение и усвоение питательных веществ рациона [10]. Нивелировать их действие способны экзогенные энзимы. Кроме того, доказано, что энзимы способны увеличивать продуктивность цыплят-бройлеров, за счет снижения вязкости кишечного содержимого и модуляции микробиоты желудочно-кишечного тракта [5, 8]. Включение экзогенных энзимов может стать ключевым решением для устойчивого развития птицеводческой отрасли. Однако, улучшение усвояемости нутриентов может способствовать избыточной биоаккумуляции микроэлементов, в том числе токсичных [2, 7]. Существует тесная взаимосвязь между нутриентной обеспеченностью и обменом химических элементов в организме. Дефицит или избыточное накопление элементов в организме животного сопровождается выраженными метаболическими изменениями [3].

Цель работы – изучение особенностей элементного статуса организма на фоне энзимсодержащего рациона.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования выполнены на цыплятах-бройлерах (кросс Арбор-Айкрес (Авиаген)) на базе вивария ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии». В соответствии с принципом аналогичных групп, были отобраны цыплята ($n=70$) и сформированы контрольная и опытная группы.

В ходе эксперимента, животных были выращены в рамках инструкций и рекомендаций российских нормативных актов (1987 г.; Приказ Минздрава СССР № 755 от 12.08 1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных») и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Academy Press, Washington, D.C., 1996). Исследование сопровождалось с соблюдением ряда мер, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшения количества исследованных опытных образцов.

Цыплята контрольной группы получали основной рацион, в опытной группе помимо стандартной кормосмеси вводили мультиэнзимную кормовую добавку – Акстра ХАР 102 ТРТ (ООО «Данзим», Россия) в дозе 0,05 %. В состав которой входит эндо – 1,4 – бета-ксилаза (4000 ед./г), альфа-амилаза (400 ед./г), субтилизин (8000 ед./г). Продуценты: *Bacillus subtilis*, *Trichoderma reesei* и *Bacillus licheniformis*.

На протяжении всего опыта условия содержания и кормления были идентичными во всех группах с соблюдением основной технологии выращивания цыплят кросса Арбор-Айкрес. При этом, кормление цыплят-бройлеров на протяжении всех экспериментальных периодов проводилось полнорационным комбикормом по периодам выращивания с учетом рекомендаций ВНИТИП. За основу рациона была взята пшенично-кукурузно-ячменная кормосмесь.

Лабораторные исследования осуществлялись с использованием материально-технической базы Центра коллективного пользования биологических систем и агротехнологий РАН (ЦКП ФНЦ БСТ РАН) (<https://ckp-rf.ru/ckp/77384/>).

Элементный состав биосубстратов и комбикормов, который включал определение 25 химических элементов: Ca, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Ni, As, Cr, K, Na, P, Zn, I, V, Co, Se, Al, B, Cd, Pb, Hg, Sn, Si, Sr. Озоление биосубстратов было проведено с использованием микроволновой системы разложения Berghof SW 4 (Berhof, Germany). Оценка содержания элементов было осуществлено с использованием методов атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии на оборудовании ELAN DRC-e 9000 (Perkin Elmer, USA) в институте химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева, Федерального исследовательского центра «Кольский научный центр Российской академии наук» города Апатиты.

Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлена с применением программного пакета «Statistica 12.» («StatSoft Inc.», USA) и «Microsoft Excel». Проверка на нормальность распределения данных проводилась с использованием критерия согласия Колмогорова–Смирнова. С целью оценки статистической значимости был использован параметрический t – критерий Стьюдента независимых групп.

Результаты и обсуждение

Результат анализа полученных данных свидетельствует о влиянии мультиэнзимной добавки на элементный состав биосубстратов цыплят-бройлеров (рисунки 1–3).

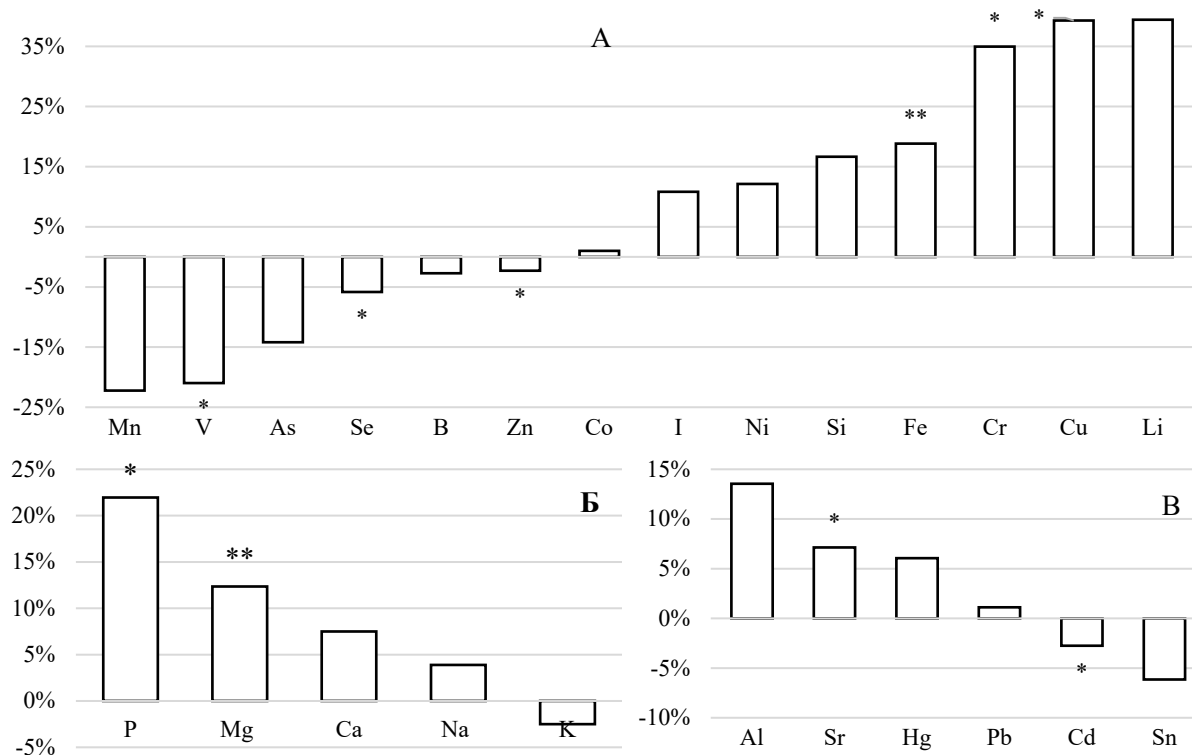


Рисунок 1 – Разница концентрации химических элементов в кожном покрове цыплят-бройлеров: А) Эссенциальные и условно-эссенциальные микроэлементы; Б) Макроэлементы; В) Токсичные элементы

В частности, при изучении элементного состава биосубстратов цыплят-бройлеров установлено, что в опытной группе в кожном покрове среди эссенциальных и условно-эссенциальных микроэлементов была увеличена концентрация меди на 39,39 % ($P \leq 0,05$), хрома на 34,96 % ($P \leq 0,05$) и железа на 18,85 % ($P \leq 0,01$) с одновременным снижением селена на 5,83 % ($P \leq 0,05$), цинка на 2,29 % ($P \leq 0,05$) и ванадия на 20,97 % ($P \leq 0,05$) по отношению к контролю. Среди макроэлементов отметим статистически значимое увеличение фосфора и магния на 21,95 % и 12,35 % ($P \leq 0,05$) соответственно в сравнении с контролем. По токсичным элементам выявлено увеличение стронция на 7,14 % ($P \leq 0,05$) и снижения кадмия на 2,76 % ($P \leq 0,05$) в опыте по отношению к контролю.

В мышечной ткани цыплят-бройлеров опытной группы было установлено среди эссенциальных и условно-эссенциальных элементов увеличение концентрации кобальта на 15,89 % ($P \leq 0,05$), железа на 16,5 % ($P \leq 0,01$) и хрома на 22,29 % ($P \leq 0,05$) (рисунок 2). При этом, было отмечено снижение ванадия на 22,53 % ($P \leq 0,05$) и селена на 7,69 % ($P \leq 0,05$) в сравнение с контролем. При оценке концентрации макроэлементов в мышечной ткани, отметим тенденцию к увеличению кальция, натрия и снижению калия, со статистически значимым увеличением магния на 10,31 % ($P \leq 0,05$) и фосфора на 19,54 % ($P \leq 0,05$). По токсичным микроэлементам ситуация сложилась следующим образом: выявлена тенденция к увеличению алюминия, стронция и свинца, со статистически значимым снижением кадмия на 4,68 % ($P \leq 0,05$) в сравнение с контролем.

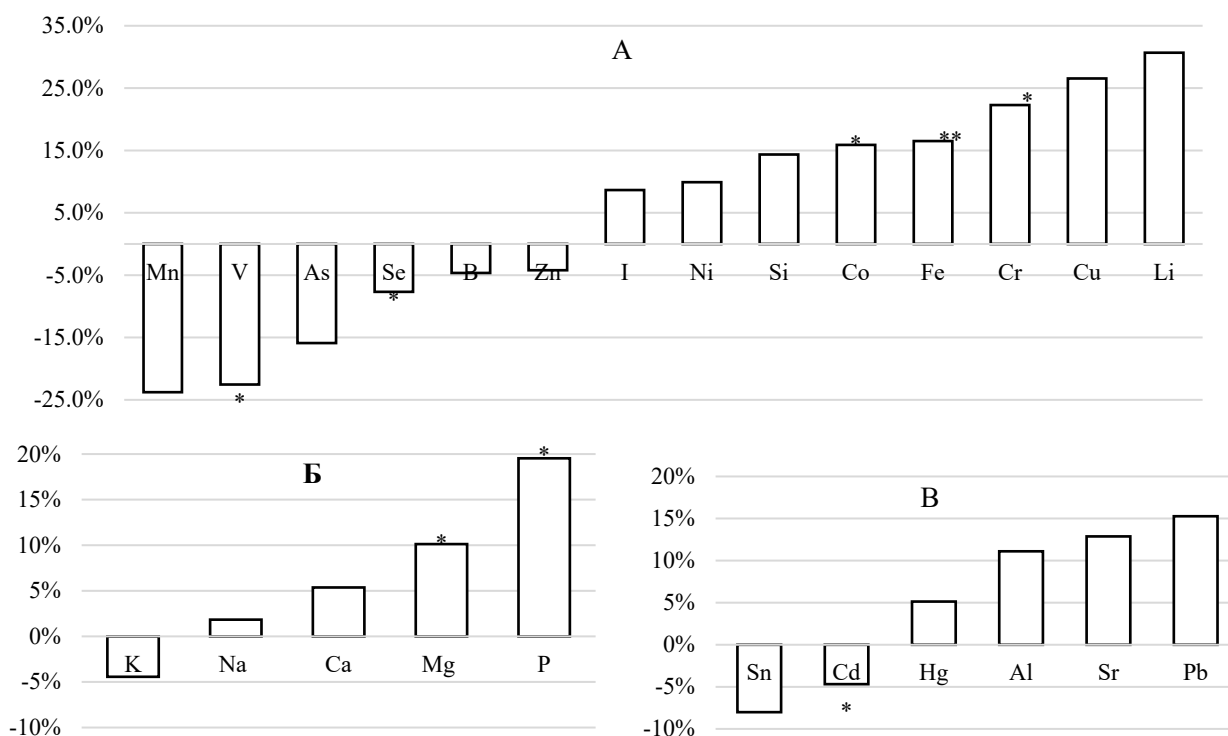


Рисунок 2 – Разница концентрации химических элементов в мышечной ткани цыплят-бройлеров: А) Эссенциальные и условно-эссенциальные микроэлементы; Б) Макроэлементы; В) Токсичные элементы.

Элементный анализ внутренних органов свидетельствовал о парадоксальной ситуации, среди всех элементов, большая часть стремилась к снижению (рисунок 3). В частности, по эссенциальным и условно-эссенциальным микроэлементам в опытной группе наблюдалось снижение селена на 28,29 % ($P \leq 0,05$), цинка на 25,6 % ($P \leq 0,05$), кремния на 2,77 % ($P \leq 0,05$) и железа на 9,5 % ($P \leq 0,05$), с увеличением меди на 6,07 % ($P \leq 0,05$) в сравнение с контролем. Среди макроэлементов в опытной группе были увеличены кальций на 18,15 % ($P \leq 0,05$) и магний на 14,45 % ($P \leq 0,05$). Кроме этого, прослеживалась тенденция к снижению ряда токсичных элементов: олово, кадмий, ртуть, алюминий. Статистически значимое снижение отмечено в отношении стронция, разница с контролем 12,33 % ($P \leq 0,01$).

Скорость накопления и конверсия веществ представляют собой емкие и информативные показатели обменных процессов в организме. В ходе исследования выявлены элементы, характеризующиеся схожей скоростью накопления между контрольной и опытной группами. В частности, к ним относятся кремний, никель, магний, йод, кальций, натрий. Высокими показателями скорости накопления характеризовались такие элементы как медь, хром, железо, фосфор, алюминий. Максимальная разница с контролем отмечена в отношении меди и хрома и составила 33,04 % ($P \leq 0,05$) и 19,43 % ($P \leq 0,05$) по отношению к контролю. Скорость накопления железа была также увеличена на 8,11 % ($P \leq 0,05$). Снижение скорости накопления при введении мультиэнзимной добавки наблюдалось в отношении

марганца, ванадия, мышьяка, олово, селена, бора, цинка, кадмия, калия. Скорость накопления мышьяка была снижена на 24,66 % ($P \leq 0,05$), олова на 18,57 % ($P \leq 0,05$), селена на 18,07 % ($P \leq 0,05$), цинка на 14,86 % ($P \leq 0,05$). Тенденция к выведению отмечена в отношении марганца и ванадия.

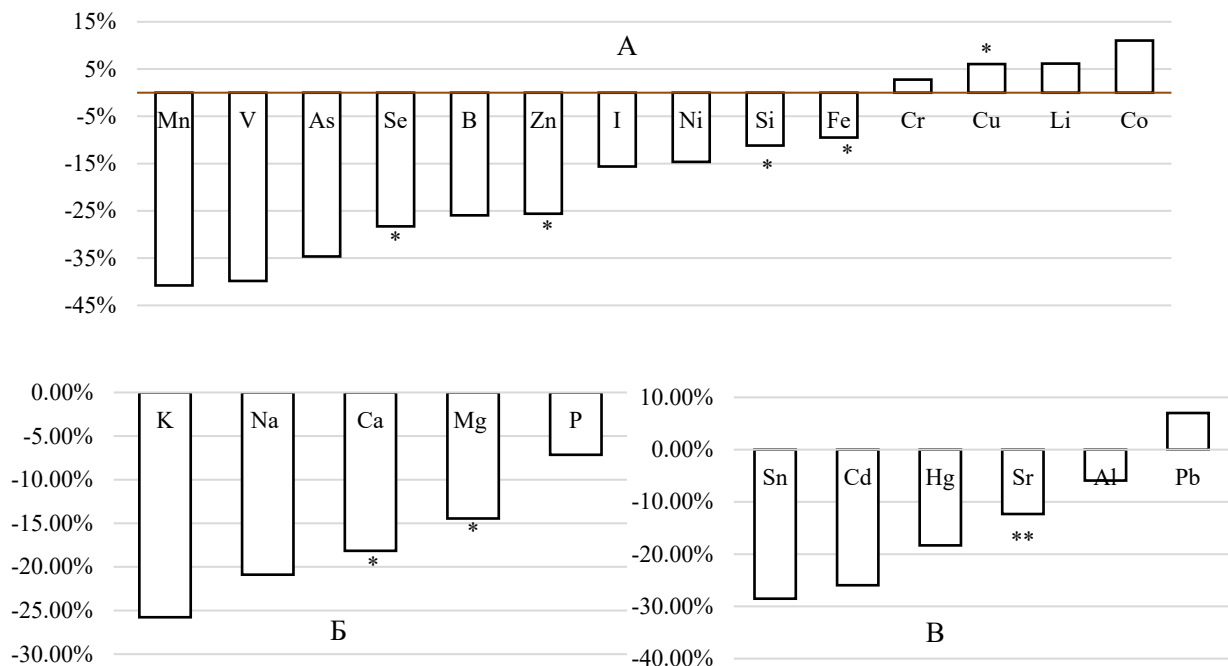


Рисунок 3 – Разница концентрации химических элементов во внутренних органах цыплят-бройлеров: А) Эссенциальные и условно-эссенциальные микроэлементы; Б) Макроэлементы; В) Токсичные элементы

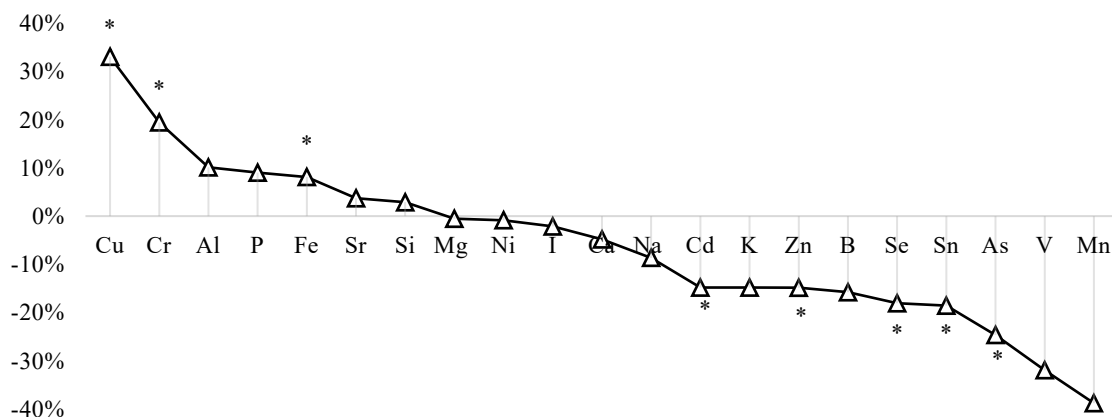


Рисунок 4 – Разница скорости накопления химических элементов в организме цыплят-бройлеров опытной группы по сравнению с контрольной

Для установления биоаккумуляции химических элементов в организме цыплят-бройлеров, проведен анализ их конверсии за период опыта (таблица 1). Выявлено, что на фоне энзимсодержащего рациона эффективность использования кобальта, хрома, меди, железа, лития, кремния возрастает, с одновременным снижением конверсии селена, кадмия, мышьяка и олова. Увеличение конверсии хрома в опытной группе составило 19,61 % ($P \leq 0,05$), меди – 32,87 % ($P \leq 0,01$), железа – 8,02 % ($P \leq 0,05$), лития – 19,95 % ($P \leq 0,05$). Снижение конверсии отмечено в отношении мышьяка на 24,6 % ($P \leq 0,05$), селена на 18,05 % ($P \leq 0,05$), кадмия на 14,76 % ($P \leq 0,01$) и свинца на 1,91 % ($P \leq 0,05$).

Таким образом, введение мультиэнзимной добавки обеспечивает гомеостатические изменения элементного статуса, это выражается в первую очередь изменением конверсии, а также скорости накопления элементов, что в последующем сказывается на перераспределении в тканях и органах

цыплят-бройлеров. В частности, экзогенные энзимы такие как амилаза, липаза, протеаза воздействует непосредственно на компоненты злаковой клетки. Корма содержат микроэлементы, но антипитательные факторы, в частности некрахмальные полисахариды, влияют непосредственно на их биодоступность. Таким образом, энзимы нивелируя действие антипитательных факторов и улучшая переваримость и эффективность абсорбции, способны увеличивать общую биодоступность ряда микроэлементов [9].

Таблица 1 – Конверсия химических элементов в организме цыплят-бройлеров за период опыта, мг/кг

Элемент	Группа	
	Контроль	Опыт
As	0,142±0,0037	0,107±0,0045*
B	0,012±0,0015	0,010±0,0005
Co	0,061±0,0038	0,082±0,0031
Cr	2,671±0,0678	3,193±0,0143*
Cu	0,063±0,0083	0,083±0,0036**
Fe	0,074±0,0039	0,080±0,0034*
I	0,026±0,0028	0,026±0,0010
Li	0,038±0,0007	0,045±0,0021*
Mn	0,004±0,0005	0,003±0,0001
Ni	0,029±0,0031	0,029±0,0011
Se	0,722±0,0274	0,592±0,0229*
Si	0,224±0,0028	0,283±0,0102*
V	0,050±0,0052	0,034±0,0013
Zn	0,146±0,0163	0,124±0,0050
Al	0,044±0,0046	0,046±0,0018
Cd	0,109±0,0011	0,093±0,0034**
Hg	0,081±0,0088	0,077±0,0031
Pb	0,103±0,0047	0,101±0,0024*
Sn	0,184±0,2769	0,137±0,1993
Sr	0,012±0,0014	0,012±0,0005

соотношений микро- и макроэлементов непосредственно сказывается на деятельность организма, могут снижать или повышать общую сопротивляемость, а следовательно, и способность к адаптации [1]. Внутриклеточная компартментализация микроэлементов и минералов осуществляется полимодальными путями и сопровождается возникновением антагонистических и синергетических отношений, с одной стороны, и взаимодействием с сигнальными системами и геномным аппаратом клетки – с другой. Изменения в концентрации микроэлементов в кожном покрове затрагивает ряд токсичных элементов, данный момент связан с их свойством – участие в саногенетической регуляции [6].

Следовательно, учитывая скрытые адаптационные механизмы, связанные с перераспределением химических элементов по органам и тканям, представляющих собой как ретенцию, так и непосредственно метаболизм, введение мультиэнзимной добавки в рацион цыплят-бройлеров способствует активному высвобождению связанных микроэлементов и стимуляции системы регуляции уровня микроэлементов.

Заключение

Исследование влияния мультиэнзимной добавки, введенной в рацион цыплят-бройлеров, указывает на различную скорость накопления элементов в организме, их перераспределение и всасываемость. Мультиэнзимная добавка приводит к увеличению конверсии хрома, меди, железа, лития, с одновременным снижением конверсии мышьяка, селена, кадмия и свинца. При этом, высокими показателями скорости накопления характеризовались такие элементы как медь, хром, железо, фосфор, алюминий.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ 20–16–00078-П.

Ксилан представляет большую часть некрахмальных полисахаридов входящих в состав клеточной стенки пшеницы, ячменя и кукурузы. Ксилан, как и другие некрахмальные полисахариды образует комплексы с химическими элементами посредством электростатических взаимодействий. Он будет депротонирован при нейтральном pH, и поэтому такие ионы, как Ca^{2+} , Fe^{2+} и Zn^{2+} , будут взаимодействовать с отрицательно заряженными группами [10]. Учитывая тот факт, что в исследовании рацион цыплят-бройлеров представлял пшенично-кукурузно-ячменную кормосмесь, добавление ксиланазы будет способствовать усилению высвобождения микроэлементов. Данный факт был подтвержден увеличением скорости накопления и конверсии хрома, меди, железа и лития. Включаясь в общий метаболический пул, элементы будут оказывать влияние на продуктивность животных, снижая затраты корма.

Любые изменения в системе

Литература

1. Алиджанова, И.Э. Элементный статус лабораторных животных Как проявление адаптации к воздействию эндогенных факторов / И.Э. Алиджанова, С.В. Нотова, С.А. Мирошников // Животноводство и кормопроизводство. – 2014. – Т. 4. – № 87. – С. 96–100.
2. Лебедев, С.В. Выбор биоиндикаторов для оценки элементного статуса животных / С.В. Лебедев, А.В. Харламов, М.Я. Курилкина // Животноводство и кормопроизводство. – 2019. – Т. 102. – № 1. – С. 71–78. doi:10.33284/2658–3135–102–1–71
3. Лебедев, С.В. Элементный статус организма кур при введении в рацион ферментных, пробиотических и антибиотических препаратов / С.В. Лебедев // Животноводство и кормопроизводство. – 2013. – № 82. – С. 88–93.
4. Лебедев, С.В. Особенности обмена химических элементов в организме кур-несушек при введении в рацион ферментных, пробиотических и антибиотических препаратов / С.В. Лебедев, О.В. Кван, О.Н. Суханова // Животноводство и кормопроизводство. – 2016. – Т. 2. – № 94. – С. 81–90.
5. Нечитайло, К.С. Выращивание цыплят-бройлеров с использованием мультиэнзимной кормовой добавки / К.С. Нечитайло, Е.А. Сизова // Актуальная биотехнология. – 2021. – № 1. – С. 79–81.
6. Радыш, И.В. Введение в элементологию: учебное пособие / И.В. Радыш, А.В. Скальный, С.В. Нотова, О.В. Маршинская, Т.В. Казакова; ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН – Оренбург, 2019 – 183 с.
7. Сизова, Е.А. Экспериментальное моделирование влияния кадмия на элементный статус организма / Е.А. Сизова, А.М. Короткова // Животноводство и кормопроизводство. – 2013. – Т. 4. – № 82. – С. 85–88.
8. Abd El Latif MA, Abdel-Wareth AAA, Daley M, Lohakare J. Effect of Dietary Orange Peel Meal and Multi-Enzymes on Productive, Physiological and Nutritional Responses of Broiler Chickens. *Animals (Basel)*. 2023 Jul 31; 13(15):2473. doi: 10.3390/ani13152473
9. Baker JT, Duarte ME, Holanda DM, Kim SW. Friend or Foe? Impacts of Dietary Xylans, Xylooligosaccharides, and Xylanases on Intestinal Health and Growth Performance of Monogastric Animals. *Animals (Basel)*. 2021 Feb 26; 11(3):609. doi: 10.3390/ani11030609.
10. Yu X, Han J, Li H, Zhang Y, Feng J. The effect of enzymes on release of trace elements in feedstuffs based on in vitro digestion model for monogastric livestock. *J Anim Sci Biotechnol*. 2018 Oct 15; 9:73. doi: 10.1186/s40104–018–0289–2.
11. Yu X, Han J, Li H, Zhang Y, Feng J. The effect of enzymes on release of trace elements in feedstuffs based on in vitro digestion model for monogastric livestock. *J Anim Sci Biotechnol*. 2018 Oct 15; 9:73. doi: 10.1186/s40104–018–0289–2.

ОТБОР ШТАММОВ *BACILLUS* SPP. ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЖИВОТНОВОДСТВА

Д.Е. Дудник, А.Н., Иркитова, А.В. Малкова, Е.Н. Каргашилова

ФГБОУ «Алтайский государственный университет», Барнаул, Россия

Инфекционные заболевания животных являются одной из наиболее значимых проблем сельского хозяйства. Интенсификация животноводства и, как следствие, содержание животных большими группами приводит к созданию благоприятных условий для роста патогенной и условно-патогенной микрофлоры в помещениях, где содержатся животные. Бактериальные инфекции в таких условиях начинают приобретать хронический характер и приводят к значительным экономическим потерям для предприятий [1].

Причиной бактериальных инфекций в большинстве случаев является проникновение патогенной микрофлоры внутрь организма, что приводит к снижению жизненных функций животного. Профилактика бактериальных инфекций включает повышение неспецифической устойчивости поголовья и дезинфекцию помещений, которые могут проводиться с помощью биологических препаратов на основе микроорганизмов [2, 3].

Повышение сопротивляемости организма возможно с помощью применения пробиотических препаратов. Использование пробиотиков не только позволяет снизить количество инфекции, но и ускорить выздоровление и минимизировать последствия антибиотикотерапии [3]. Особенно эффективны данные препараты в отношении профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний, летальность которых может достигать до 50 % [1, 3].

Профилактическая дезинфекция является неотъемлемой частью санитарно-гигиенических мероприятий в сельском хозяйстве. Для её проведения в основном используются химические средства, которые быстро действуют, эффективны, но и, вместе с тем, высокоопасны для животных, птиц и рабочего персонала [4]. Биологические дезинфектанты на основе бактерий являются более экологичной альтернативой химическим средствам и позволяют снижать численность патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Помимо этого, применение биологической дезинфекции положительно сказывается на сохранности молодняка и среднесуточном приросте [5].

Бактерии рода *Bacillus* активно используются как компонент биологических чистящих средств, что обусловлено множеством свойств, повышающих дезинфицирующую способность средств. Бациллы синтезируют противомикробные соединения и органические кислоты, благодаря чему способны к конкурентному вытеснению и замещению патогенов на обрабатываемых поверхностях. Кроме того, применение дезинфектантов на основе бактерий *Bacillus* вызывает у патогенной и условно-патогенной микрофлоры потерю генов устойчивости к антибиотикам [6].

Исходя из вышеизложенного необходима разработка биологических препаратов для профилактики бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных и птиц. Для этого в свою очередь необходим поиск и отбор штаммов с высоким антагонистическим потенциалом в отношении патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

В качестве объектов исследования были использованы штаммы *Bacillus* spp. из коллекции ИЦ Промбиотех АлтГУ. Все штаммы были выделены из различных экологических ниш: ризосфера растений, естественные водоемы, животноводческие и птицеводческие помещения.

В качестве тест-культур использовали 7 штаммов грамотрицательных бактерий семейства Enterobacteriaceae: *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Shigella* spp., *Salmonella enterica* Pullorum, *Citrobacter freundii*, *Providencia alcalifaciens*.

Для культивирования всех микроорганизмов использовали L-бульон следующего состава (г/л): 5 NaCl, 5 дрожжевой экстракт, 15 пептон. Определение антагонизма проводили на плотной L среде аналогичного состава с добавлением микробиологического агара 15 г/л.

Антагонистическую активность оценивали методом перпендикулярных штрихов [7]. Для этого штаммы *Bacillus* spp и тест-культур для исследования предварительно выращивали в шейкере-инкубаторе на L-бульоне в течение 24 часов при 37 °C и вращении 220 об/мин. На поверхность плотной L среды высевали в виде прямого штриха (основной штрих) исследуемый штамм бацилл

и культивировали в термостате в течение 24 часов при 37 °С. По истечении времени штаммы тест-культур подсекали штрихами перпендикулярно основному штриху и культивировали 24 часа в аналогичных условиях. Результаты оценивали по размеру зоны задержки роста тест-культуры на границе контакта с исследуемым штаммом. Все значения представлены в виде среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение.

В результате проведенного исследования установлено что из 17 штаммов только 7 обладали антагонистической активностью в отношении тест-культур энтеробактерий (табл. 1).

Таблица 1. Антагонистическая активность штаммов *Bacillus* spp. в отношении энтеробактерий

Исследуемый штамм	<i>E. coli</i> 1	<i>E. coli</i> 2	<i>S. marcescens</i>	<i>Shigella</i> spp	<i>enterica Pullorum</i>	<i>freundii</i>	<i>alcalifaciens</i>
	Зона подавления роста тест-культуры, мм						
<i>licheniformis</i> 5	-	-	-	-	-	-	-
<i>licheniformis</i> 6	12,5 $\pm$ 3,5	4,7 $\pm$ 0,6	-	2,7 $\pm$ 1,2	-	-	8,5 $\pm$ 0,7
<i>licheniformis</i> 7	3,3 $\pm$ 0,6	2,3 $\pm$ 0,6	3,3 $\pm$ 0,6	2,3 $\pm$ 0,6	5,3 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0
<i>licheniformis</i> 8	2,0 $\pm$ 0,0	1,7 $\pm$ 0,6	3,0 $\pm$ 0,0	2,8 $\pm$ 0,3	-	-	2,0 $\pm$ 0,0
<i>licheniformis</i> 10	-	-	-	-	-	-	-
<i>pumilus</i> 4	-	-	-	-	-	-	-
<i>pumilus</i> 5	-	-	-	-	-	-	-
<i>pumilus</i> 6	-	-	-	-	-	-	-
<i>pumilus</i> 7	-	-	-	-	-	-	-
<i>pumilus</i> 16	-	-	-	-	-	-	-
<i>firmus</i> 1	-	-	-	-	-	-	-
<i>firmus</i> 2	-	-	-	-	-	-	-
<i>firmus</i> 3	3,3 $\pm$ 0,6	-	-	-	-	2,0 $\pm$ 0,0	2,7 $\pm$ 0,6
<i>megaterium</i>	5,7 $\pm$ 0,6	-	-	-	3,0 $\pm$ 0,0	-	1,0 $\pm$ 0,0
<i>mojavensis</i>	-	1,0 $\pm$ 0,0	-	3,7 $\pm$ 0,6	2,0 $\pm$ 0,0	-	-
<i>toyonensis</i> 15	-	-	-	-	-	-	-
<i>subtilis</i> group 1	3,3 $\pm$ 0,6	2,7 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 1,0	3,7 $\pm$ 0,6	3,1 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0

Примечание: «-» – антагонизм отсутствует

Для двух штаммов (*B. licheniformis* 7 и *B. subtilis* group 1) была отмечена антагонистическая активность в отношении всех грамотрицательных тест-культур. Напротив, штаммы *B. licheniformis* 5, *B. licheniformis* 10, *B. pumilus* 4, *B. pumilus* 5, *B. pumilus* 6, *B. pumilus* 7, *B. pumilus* 16, *B. firmus* 1, *B. firmus* 2 и *B. toyonensis* 15 не влияли на рост энтеробактерий. Для остальных бацилл антагонизм определен только в отношении отдельных штаммов тест-культур.

Причина отсутствия антагонистической активности у 59 % штаммов *Bacillus* spp может быть связана с тем, что для большинства штаммов бацилл характерна продукция антимикробных соединений, ингибирующих рост только грамположительных микроорганизмов и грибов. Грамотрицательные микроорганизмы зачастую обладают устойчивостью к антимикробным пептидам бактерий рода *Bacillus* или способны их инактивировать. Однако у некоторых видов бацилл, в том числе у видов *B. licheniformis* и *B. subtilis*, обнаружены макролактин, липопептиды, бактериоцины и бактериоцинподобные пептиды активные также в отношении грамотрицательных бактерий, в том числе и энтеробактерий (субтилозин А, сурфацин, бацилизин) [8].

Для отбора штаммов *Bacillus* spp с наибольшим антагонистическим потенциалом использовали бальную систему. Степень антагонизма определяли по размеру зоны задержки роста тест-культуры: высокая активность – 11–30 мм, средняя – 4–11 мм, слабая – до 4 мм. Высокую антагонистическую активность оценивали в 3 балла, среднюю – в 2 балла, низкую – в 1 балл (табл. 2).

По результатам балльной оценки максимальные значения зафиксированы для 3 штаммов – *B. licheniformis* 6, *B. licheniformis* 7 и *B. subtilis* group 1. Другие 4 штамма *Bacillus* spp показали более низкие значения по представленной балльной системе.

Таблица 2. Оценка антагонистической активности штаммов *Bacillus* spp

Тест-культура	Исследуемый штамм						
	<i>licheniformis</i> 6	<i>licheniformis</i> 7	<i>licheniformis</i> 8	<i>firmus</i> 3	<i>megaterium</i>	<i>mojavensis</i>	<i>subtilis</i> group 1
Степень антагонизма							
<i>E. coli</i> 1	Высокая	Низкая	Низкая	Низкая	Средняя	-	Низкая
<i>E. coli</i> 2	Средняя	Низкая	Низкая	-	-	Низкая	Низкая
<i>marcescens</i>	-	Низкая	Низкая	-	-	-	Средняя
<i>Shigella</i> spp	Низкая	Низкая	Низкая	-	-	Низкая	Низкая
<i>enterica</i> Pullorum	-	Средняя	-	-	Низкая	Низкая	Низкая
<i>freundii</i>	-	Низкая	-	Низкая	-	-	Низкая
<i>alcalifaciens</i>	Средняя	Низкая	Низкая	Низкая	Низкая	-	Низкая
Сумма баллов							
	8	8	5	3	4	3	8

Примечание: «-» – антагонизм отсутствует

Таким образом по результатам исследования наибольшая антагонистическая активность была зафиксирована у штаммов *B. licheniformis* 6, *B. licheniformis* 7 и *B. subtilis* group 1. Данные штаммы показали свою эффективность в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных грамотрицательных бактерий. В связи с чем штаммы *B. licheniformis* 6, *B. licheniformis* 7 и *B. subtilis* group 1 перспективны для включения в состав биологического препарата для животноводства.

Литература

1. Сазонова Е.А., Гунько М.В. Распространенность штаммов *E.coli* у различных видов животных и птицы // Ветеринария и кормление, 2023. – № 3. – С. 70–72.
2. Пивнева В.В. Перспективы профилактики инфекционных заболеваний животных в современных условиях // Форум молодых ученых, 2019. – № 12. – С. 724–726.
3. Афанасьева Ю.Г., Корбмахер Е.Р., Колодина Е.В., Лиманский В.В., Пушкарев В.А., Функ И.А. Пробиотики – альтернатива кормовым антибиотикам // Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2023. – № 2 (220). – С. 65–72.
4. Шилова Е.Н., Вялых И.В., Кадочников Д.М., Субботина О.Г. Эффективность применения новых дезинфицирующих средств в ветеринарии // Аграрный вестник Урала, 2013. – № 8 (114). – С. 7–12.
5. Сверчкова Н.В. Пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus* для животноводства, птицеводства и промышленного рыбоводства Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты, 2020. – Т. 12. – С. 252–264.
6. De Cesare A., Caselli E., Lucchi A., Sala C., Parisi A., Manfreda G., Mazzacane S. Impact of a probiotic-based cleaning product on the microbiological profile of broiler litters and chicken caeca microbiota // Poultry Science, 2019. – V. 98. – P. 3602–3610.
7. ОФС.1.7.2.0009.15 Определение специфической активности пробиотиков. Общая фармакопейная статья. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. – Москва, 2018. – Т. 2. – 3262 с.
8. Abriouel H., Franz C.M., Ben Omar N., Galvez A. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins // FEMS Microbiology Reviews, 2011. – V. 35. – P. 201–232.

УДК 664.5+581.192

ОСОБЕННОСТИ ОБОГАЩЕНИЯ СЕЛЕНОМ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ЯСНОТКОВЫЕ (LAMIACEAE) С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

П.В. Масленников, П.В. Федурев, Т.В. Стыран, С.А. Небреева, Л.Н. Скрыпник

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», Калининград, Россия

Селен (Se) является незаменимым микроэлементом, участвующим в окислительно-восстановительных процессах в организме человека, животных и микроорганизмах. У млекопитающих Se в форме необычной аминокислоты селеноцистеина (SeCys) включается в каталитический центр селенопротеинов посредством перекодирования стоп-кодона UGA в кодон SeCys. У людей по крайней мере 25 селенопротеинов играют важную роль в антиоксидантных системах, гормональном балансе, иммунитете, мужской фертильности, устойчивости к вирусным инфекциям и профилактике рака. Рекомендуемые нормы потребления селена составляют в среднем 55–70 мкг Se в день. Однако Se проявляет двойственные свойства: при превышении пороговой концентрации, установленной на уровне 400 мкг Se в день, он ставится токсичным [1]. Известно, что около 15 % населения мира, включая население многих развитых стран и России, испытывают недостаток потребления Se [2].

Получение функциональных продуктов питания с выраженным антиоксидантным и антиканцерогенным действием является крайне актуальным в эпоху развития глобального экологического кризиса. Одним из направлений таких исследований является получение продуктов растительного происхождения на основе обогащенных селеном растений. Кроме того, растения с повышенным содержанием селена изучаются с целью возможного получения из них белковых фракций и продуктов питания, обогащенных селеном [3].

Среди лекарственных и пряно-вкусовых растений растения семейства Яснотковые (*Lamiaceae*) являются одной из самых популярных и представительных групп растений, которые в настоящее время используются как в традиционной, так и в современной медицине, а также в фармацевтической и пищевой промышленности [4]. К растениям данного семейства относятся, например, базилик (*Ocimum spp.*), иссоп (*Hyssopus officinalis L.*), лаванда (*Lavandula angustifolia Mill.*), мелисса (*Melissa officinalis L.*), майоран (*Origanum majorana L.*), душица (*Origanum vulgare L.*), мята перечная (*Mentha × piperita L.*), розмарин (*Rosmarinus officinalis L.*), шалфей (*Salvia officinalis L.*), тимьян (*Thymus vulgaris L.*), многоколосник фенхельный (*Agastache foeniculum (Pursh) Kuntze*). Растения семейства *Lamiaceae* характеризуются высоким содержанием фенольных соединений, таких как фенолокислоты, гидроксикоричные кислоты (прежде всего, хлорогеновая и розмариновая), флавоноиды, дубильные вещества, иридоиды, хиноны, кумарины, дитерпеноиды [5]. Установлено, что активные соединения, присутствующие в растениях семейства *Lamiaceae*, обладают антибактериальным, антиоксидантным, противогрибковым, противоопухолевым, радиопротекторным, антигипертензивным действием, что позволяет рассматривать их как сырье при разработке продуктов функционального назначения.

В связи с этим целью данной работы являлось исследование особенностей накопления селена некоторыми растениями семейства Яснотковые (душицей обыкновенной, иссопом лекарственным и многоколосником фенхельным).

В качестве объекта исследования использовали душицу обыкновенную (*Origanum vulgare L.*) сорта Фея, иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis L.*) сорта Лекарь, многоколосник фенхельный (*Agastache foeniculum (Pursh) Kuntze*) сорта Франт. Растения выращивали в вегетационных сосудах объемом 2 литра с питательным раствором Хогланда. В качестве источника селена использовали раствор селената натрия (Na_2SeO_4) в воде. Для каждого вида растений изучалось влияние пяти концентраций селена (2,0, 5,0, 10,0, 20,0 и 40,0 мкМ). Смену питательного раствора и внесение селена проводили каждую неделю. В качестве контроля использовали растения, растущие на питательном растворе без селена, концентрации всех остальных элементов питания были одинаковыми. Для каждого вида растения, каждой концентрации Se, включая контроль (0, 2,0, 5,0, 10,0, 20,0 и 40,0 мкМ), проводилось по четыре повторности ($n=4$). Растения собирали через четыре недели после первоначальной обработки селеном. Растительный материал с каждого вегетационного сосуда высушивали при 60 °C и использовали для определения сухой массы растений, листьев и содержания селена.

Определение селена проводили в листьях *A. foeniculum* и в надземной части (побегах) *O. vulgare* и *H. officinalis*. Минерализацию образцов проводили с использованием смеси концентрированной азотной кислоты и 30 % хлорной кислоты при температуре 180 °С в течение 2 часов. Далее добавляли пероксид водорода и нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 минут. При появлении паров азотной кислоты процедуру повторяли. Количественное определение селена в минерализате проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии с генерацией гидридов (SpectrAA 220 FS с приставкой для генерации паров гидридов VGA 77, Varian) [6]. Интенсивность поглощения света измеряли при длине волны 196,0 нм. В качестве холостой пробы использовали раствор, содержащий все химические реактивы без растительного сырья и прошедший через все стадии анализа, включая минерализацию. Концентрацию селена выражали в микрограммах на грамм сухой массы (мкг/г).

В результате исследования морфометрических показателей растений установлено, что обработка растений *O. vulgare* селеном в концентрациях 2–20 мкМ и *H. officinalis* и *A. foeniculum* селеном в концентрациях 2–40 мкМ не приводила к негативным изменениям в ростовых параметрах и накоплении биомассы.

Чувствительность растений к воздействию селена является определяющей в эффективности получения функциональных продуктов питания, обогащенных микроэлементами. Исследование влияния внесения селена в различных концентрациях в питательную среду показало, что по сравнению с контрольными растениями, выращенными на питательной среде без добавления селена, во всех видах растений при обработке селеном происходило значительное увеличение содержания данного микроэлемента, что свидетельствует о накопительной способности данных видов растений (Таблица 1). Так, например, контрольные (необработанные селеном) растения *H. officinalis* характеризовались низкой концентрацией селена в побегах, которая составила 0,013 мкг/г (Таблица 1). Обработка *H. officinalis* селеном даже в низкой концентрации (2 мкМ) увеличивала концентрацию этого микроэлемента в 76 раз. Для растений *O. vulgare* этот коэффициент составил 10, для *A. foeniculum* – 3.

Из изученных видов растений наибольшую способность к накоплению селена проявили *H. officinalis* и *O. vulgare*, максимальное содержание селена в которых составило 38,35±1,49 и 28,22±2,98 мкг/г соответственно (Таблица 1). В листьях *A. foeniculum* максимальное содержание составило 12,79±1,66 мкг/г, что в 2–3 раза ниже по сравнению с *H. officinalis* и *O. vulgare*.

Таблица 1. Содержание селена (мкг/г) в экспериментальных растениях

Концентрация Se в питательном растворе, мкМ	Содержание селена в экспериментальных растениях, мкг/г		
	<i>vulgare</i>	<i>officinalis</i>	<i>foeniculum</i>
0 (контроль)	0,227±0,020	0,013±0,002	0,085±0,006
2	2,00±0,18	0,993±0,055	0,267±0,021
5	9,41±1,12	7,83±0,32	0,781±0,081
10	13,38±1,17	18,23±1,12	3,04±0,36
20	19,88±1,50	26,33±2,11	6,69±0,72
40	28,22±2,98	38,35±1,49	12,79±1,66

В настоящее время все растения в природных сообществах по способности к аккумуляции селена условно разделены на три группы. К первой группе относятся растения, которые способны накапливать селен в 100–1000 раз больше, чем его содержится в почве. У этих растений диапазон накопления селена от 200 мкг/г до 1000–15000 мкг/г сухой массы. Растения второй группы обычно накапливают в себе селен от 3-х до 10 раз больше, чем его содержится в почве. Концентрация селена в них от 1,0 до 200 мкг/г сухой массы. Третья группа растений, самая многочисленная, обычно накапливает селена в 1–2 раза меньше, чем его содержится в почве. Растения этой группы содержат 0,1–1,0 мкг/г сухого вещества [7]. Считается, что растения семейства Яснотковые не относятся к растениям-аккумуляторам селена и, как правило, не способны накапливать высокие концентрации данного микроэлемента без потери в продуктивности. Вместе с тем, в ряде исследований различных видов / сортов базилика было показано, что внесение в питательный раствор селена, внекорневая обработка растворами селена или применение селен-содержащих удобрений является эффективным средством повышения в его листьях содержания данного микроэлемента. При этом также отмечалось

и улучшение питательных свойств базилика, в частности повышения уровня полифенолов, эфирного масла и антиоксидантной активности [8]. Следует, однако, иметь в виду, что накопление селена и его влияние на метаболизм растений сильно зависит от вида и даже от сорта растения, что требует проведение исследований и определение оптимальных концентраций экзогенного селена для каждого вида индивидуально.

Кроме того, при выборе концентрации экзогенного селена для биофортификации растений следует учитывать, что высокие дозы селена токсичны для человека. Рекомендуемые нормы потребления селена составляют в среднем 55–70 мкг Se в день, а порогом токсичности является 400 мкг в день, поэтому для обеспечения безопасного использования растительного сырья рекомендуется использовать невысокие дозы экзогенного селена (2–10 мкМ), особенно при выращивании *H. officinalis* и *O. vulgare*.

Таким образом, в ходе проведенного исследования по обогащению селеном некоторых растений семейства Яснотковые были установлены межвидовые особенности в накоплении данного микроэлемента. Однако, в целом, результаты исследования свидетельствуют о перспективности обогащения душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.) и многоколосника фенхельного (*Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze) с целью получения растительного сырья для разработки продуктов функционального назначения с повышенным содержанием микроэлемента.

**Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-14-00106,
<https://rscf.ru/project/22-14-00106>.**

Литература

1. Schiavon M., Nardi S., dalla Vecchia F. et al. Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition // Plant Soil. – 2020. – Vol. 453. – P. 245–270.
2. Голубкина Н.А., Полубояринов П.А., Синдирева А.В. Селен в продуктах растительного происхождения // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86. – №. 2. – С. 63–69.
3. Kieliszek, M. Selenium–Fascinating Microelement, Properties and Sources in Food // Molecules. – 2019. – Vol. 24. – P. 1298.
4. Niazi M., Yari F., Shakarami A. A review of medicinal herbs in the lamiaceae family used to treat arterial hypertension // Entomol. Appl. Sci. Lett. – 2019. – Vol. 6. – N. 1. – P. 22–27.
5. Abdelhalim A., Hanrahan J. Biologically active compounds from Lamiaceae family: Central nervous system effects // Studies in Natural Products Chemistry. – 2021. – Vol. 68. – P. 255–315.
6. Kurkova T., Skrypnik L., Zalieckienė E. Features of plant material pre-treatment for selenium determination by atomic absorption and fluorimetric methods // Chemija. – 2008. – Vol. 19. – P. 40–43.
7. Соловьева А.Ю. Изучение аккумуляции селена и влияние его на накопление первичных и вторичных метаболитов в лекарственном и эфирно-масличном сырье: Автореф. дис... канд. биол. наук. – М.: ВНИИО, 2014. – 20 с.
8. Puccinelli M., Pezzarossa B., Rosellini I., Malorgio F. Selenium Enrichment Enhances the Quality and Shelf Life of Basil Leaves // Plants. – 2020. – Vol. 9. – P. 801.

КОМПЛЕКСНАЯ БИОКАТАЛИТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ АГРОПРОИЗВОДСТВА С ПОЛУЧЕНИЕМ УДОБРЕНИЙ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК, ОБОГАЩЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

В.П. Молчанов, Ю.Ю. Косивцов, Е.А. Виноградова, М.Г. Сульман

ФГБОУ ВО «Тверской государственный технический университет», Тверь, Россия

Возрастающие потребности в продукции химико-фармацевтической и пищевой промышленности требуют создания новых технологий синтеза ценных биологически активных соединений. Многочисленные биохимические и биотехнологические исследования показывают возможность использования специфических процессов из этих областей для промышленного синтеза целевых компонентов на основе дешевого природного органического сырья. В аспекте ожидаемого истощения природных ресурсов решение этой проблемы приобретает особое значение, так как продукты фотосинтеза и животного мира в будущем могут стать почти единственным полимерным сырьем для химического синтеза и биотехнологии.

Приемлемыми средствами для получения биологически активных веществ могут служить процессы биоконверсии, в которых доступные органические материалы играют роль исходного субстрата как для синтеза отдельных целевых компонентов, так и для получения эффективных удобрений и кормовых добавок с заранее заданными свойствами. Одним из наиболее перспективных направлений биоконверсии материалов природного происхождения является твердофазная ферментация органических отходов и трудногидролизуемого растительного сырья. К сожалению, данный процесс не реализован в промышленном масштабе, поскольку необходимые для этого микробиологические, физико-химические и кинетические исследования до настоящего времени не проводились.

Сырьем для твердофазной биоконверсии может служить разнообразное углеродсодержащее сырье. Органические отходы сельского хозяйства и различных отраслей промышленности являются доминирующим видом потенциального сырья для микробиологической конверсии во многих странах. В качестве потенциального сырья могут рассматриваться отходы пищевых производств (молокоперерабатывающей промышленности, крахмалопаточного и хлебопекарного производства), торф, навоз, отходы лесной и деревообрабатывающей промышленности (опилки, кора, мелкая стружка), отходы производства кукурузы, хлопчатника, винограда, отходы табачной промышленности.

Важнейшими свойствами сырья, используемого для биоконверсии, являются уровень биогенности (он определяется в первую очередь содержанием микроорганизмов в отходах сельского хозяйства), а также содержание углерода, способное обеспечить этот уровень за счет энергетики, привносимой углеродсодставляющими растительных остатков, которые в свою очередь являются базовыми связующими звеньями для всех реакций метаболизма в клетках микроорганизмов. Таким образом, именно наличие в исходном органическом сырье присущих ему сообществ микроорганизмов и необходимых для них элементов питания способно определять ход процесса ферментации и формирование конечного продукта.

Как правило, в начале процесса ферментации преобладают аэробные мезофильные бактерии, в то время как на последующих стадиях численность этих бактерий уменьшается, и увеличивается популяция актиномицетов. Затем начинают развиваться целлюлозоразрушающие грибы. При повышении температуры до 80 °С подавляется рост микроорганизмов, в том числе термофильных патогенных бактерий. В связи с этим следует поддерживать условия, при которых, с одной стороны, будет погибать патогенная микрофлора, а с другой – развиваться микроорганизмы, ответственные за деградацию биополимеров. После нагрева органической массы наступает фаза остывания. В этой стадии происходят сложные реакции между остатками лигнина, полисахаридов и белками погибших микроорганизмов.

Для стимуляции процесса ферментации используют различные физические воздействия: температуру, ультразвук, аэрацию, а также добавляют различные макро- и микроэлементы.

В Институте нано- и биотехнологий Тверского государственного технического университета выполнено комплексное исследование процесса биоконверсии смеси органических отходов животноводства и трудногидролизуемого сырья растительного происхождения с дополнительным внесением в исходную смесь различных солей аскорбиновой кислоты. Процесс ферментации проводился по трехэтапной схеме:

Подготовительный этап – приготовление исходной смеси «торф-навоз» в соответствии с экспериментально определенным ранее оптимальным соотношением 50:50, введение биологически активных стимуляторов, перемешивание.

Инкубационный этап – выдержка ферментируемой органической массы в течение 60 часов при температуре 37°C и кратковременном барботаже через каждые 24 часа.

Пастеризационный этап – обработка конечного продукта ультразвуком интенсивностью 50–60 Вт/см² в течение 3 минут для уничтожения патогенной микрофлоры и повышения интенсивности экстракции образовавшихся в продукте ферментации биологически активных компонентов (в том числе, сахаров).

В ходе ферментации торфонавозной смеси производили отбор проб, в которых определяли наличие и изменение содержания сахаров на жидкостном хроматографе типа "Хроматэк – Кристалл ВЭЖХ 2014". Предварительно навеску исследуемого материала диспергировали с десятикратным количеством пятипроцентного раствора уксусной кислоты, осадок удаляли центрифугированием в течение 15 минут при частоте вращения 5000 об/мин с последующим фильтрованием. Результаты определения содержания сахаров регистрировались в виде хроматографических пиков.

В многочисленных экспериментах при соответствующих повторах были изучены интенсивность и динамика образования сахаров в процессе биоконверсии растительного сырья и органических отходов. На рисунках 1–3 представлены образцы хроматограмм торфонавозной смеси: до начала ферментации (на подготовительном этапе), после 60 часов ферментации (на инкубационном этапе) и после ультразвуковой обработки продукта биоконверсии (на пастеризационном этапе).

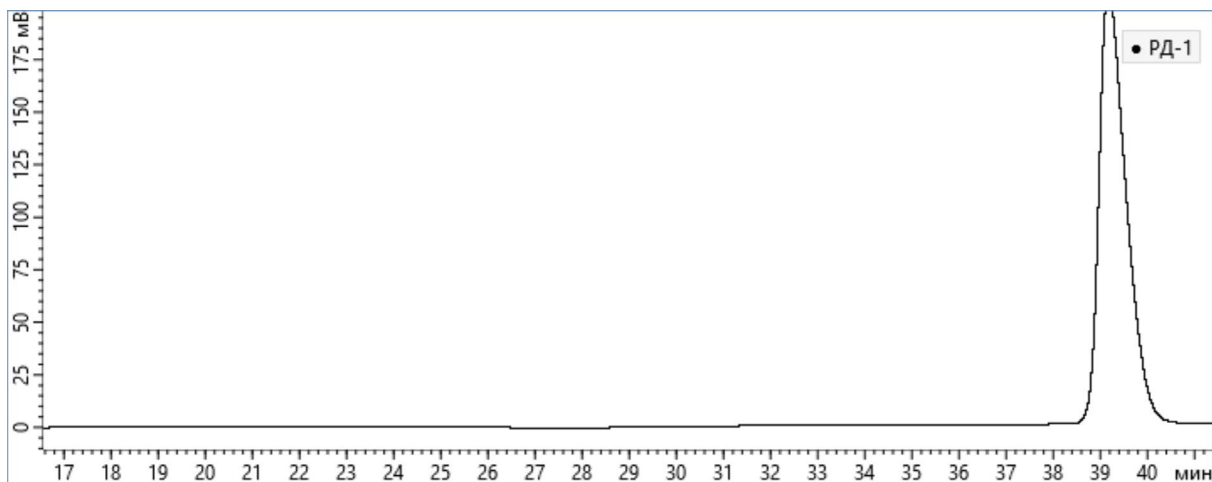


Рисунок 1 – Хроматограмма торфонавозной смеси до биоконверсии

Анализ представленных хроматограмм показывает, что в ходе ферментации торфонавозной смеси в ней образуется значительное количество сахаров, присутствие которых не отмечается на хроматограмме исходной смеси. Причем, после обработки отферментированной смеси ультразвуком интенсивность экстракции сахаров существенно возрастает, что приводит к увеличению их количества в детектируемой смеси в среднем в 2.3 раза. Таким образом, ультразвуковая обработка является не только удобным инструментом для пастеризации готового продукта биоконверсии, но и значительно повышает биодоступность образующихся в ходе ферментации сахаров.

Выполненные анализы конечного продукта биоконверсии подтверждают возможность его использования в качестве удобрения и премикса при разработке рационов для крупного рогатого скота и сельскохозяйственной птицы. Проведенные исследования позволили осуществить серию лабораторных испытаний процесса биоконверсии растительного сырья и органических отходов на базе Тверского государственного технического университета и Всероссийского научно-исследовательского института мелиорированных земель.

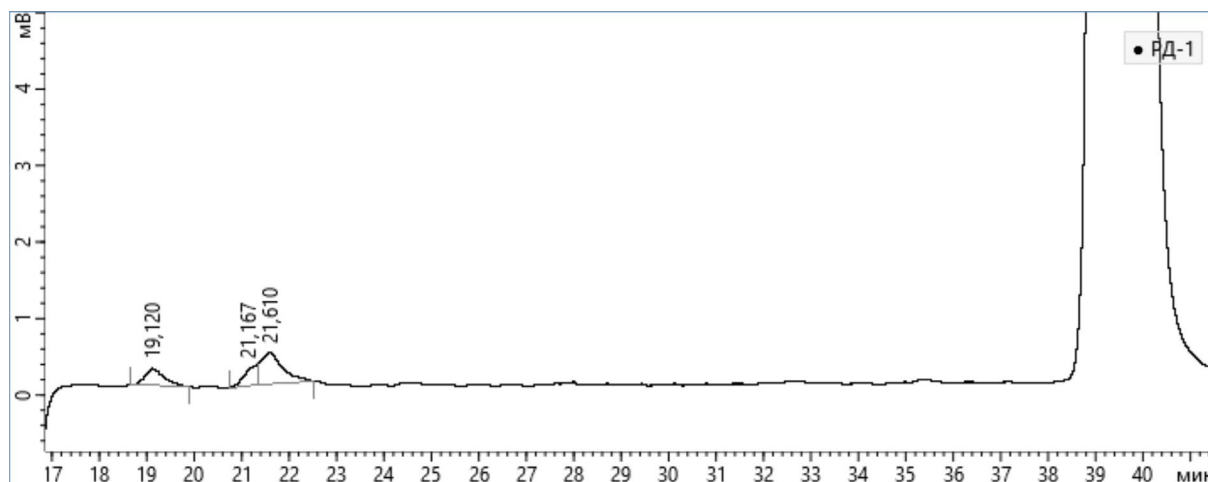


Рисунок 2 – Хроматограмма торфяноавозной смеси после биоконверсии (без ультразвуковой обработки)

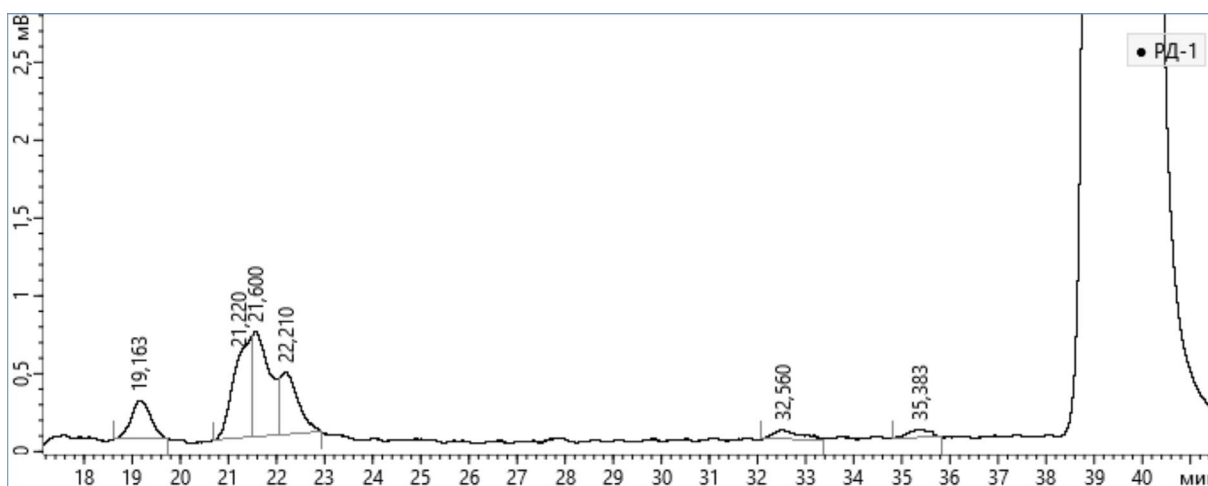


Рисунок 3 – Хроматограмма торфяноавозной смеси после биоконверсии и обработки ультразвуком

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20–69–47084).

Литература

1. Биотехнологическое использование отходов растениеводства / А.И. Осадочная, В.С. Подгорский, В.Ф. Семенов – Киев: Наукова думка, 1990.
2. Ковалев Н.Г., Рабинович Г.Ю., Сульман Э.М., Пакшвер С.Л., Рогов Р.В. Способ получения кормовых добавок и удобрений из органических отходов // Патент РФ № 2126779.
3. Лейбниц Э., Штрупке Х.Г. Руководство по хроматографии. – М.: Мир, 1988.
4. Калунянц К.А., Ездаков Н.В., Пивняк И.Г. Применение продуктов микробиологического синтеза в животноводстве. – М.: Колос, 1980.

УДК 547.326, 632.931

ГРАНУЛЫ НА ОСНОВЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРОВ С БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ ДЛЯ БОРЬБЫ С КАРТОФЕЛЬНОЙ НЕМАТОДОЙ *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS***А.А. Суханова¹, А.Н. Бояндин¹, Н.Л. Ертилецкая¹, А.А. Чураков²***ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет науки и технологий им. М.Ф. Решетнева», 660123, Красноярск, Россия**ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», Красноярск, Россия*

Золотистая картофельная нематода *Globodera rostochiensis* (ЗКН) является серьезной проблемой для выращивания картофеля во всем мире. Учитывая высокие потери урожая, вызванные ЗКН, и ограниченную эффективность традиционных подходов (синтетические нематодыциды, агрофитоценоотические методы) для решения этой проблемы [1, 2], необходимо искать и исследовать новые средства борьбы с вредителями. Разработка препаратов длительного действия с нематодыцидными ингредиентами может стать новым перспективным подходом в борьбе с ЗКН.

Одной из таких стратегий может быть, например, использование систем контролируемого высвобождения на полимерной основе, которые действуют как носители пестицидов и обеспечивают их медленное высвобождение в течение вегетационного периода. Для таких систем предпочтительно использовать биоразлагаемые полимерные материалы, которые могут разлагаться в окружающей среде на безопасные конечные продукты (вода и газ). Среди которых полигидроксикапроноаты [3], целлюлоза [4], полилактид [5], поликапролактон [6], а также их смеси с другими биodeградируемыми и синтетическими полимерами, и органическими и неорганическими вещества известны в качестве биоразлагаемых полимерных носителей пестицидов.

Поликапролактон (ПКЛ) представляет собой биоразлагаемый полиэфир, синтезированный из мономера ϵ -капролактона. Поликапролактон в окружающей среде деградирует до 6-гидроксикапроновой кислоты в результате гидролиза ферментами эстеразами, которая включается в цикл окисления жирных кислот микроорганизмов. Однако для широкого внедрения сельскохозяйственных препаратов на основе ПКЛ необходимо каким-либо образом снизить его себестоимость. Для снижения стоимости получаемого материала, а также для улучшения эксплуатационных характеристик ПКЛ его часто смешивают с другими полимерами, такими как поли(3-гидроксibuтират), полимолочная кислота, крахмал, целлюлоза или неорганическими наполнителями. В качестве глинистых минеральных наполнителей чаще всего используют монтмориллонит, бентонит, сапонит, гекторит, смектит или лапонит. Одним из наиболее широко используемых типов наполнителя ПКЛ является монтмориллонит (ММТ), представляющий собой слоистый силикат, ионы которого могут быть заменены органо-ионами для увеличения расстояния между слоями и улучшения совместимости полимер / глина [7].

Важным компонентом таких систем / композитов является пестицид, используемый в качестве действующего вещества против *G. rostochiensis*. Оксамил представляет собой карбаматный пестицид, который контролирует широкий спектр насекомых, клещей, клещей и, в первую очередь, нематод. Одной из причин его использования является его быстрая деградация и частичный гидролиз: период полураспада оксамила в почве колеблется от нескольких часов до нескольких дней и зависит от pH почвы. Из-за быстрого разложения в почве оксамил считается относительно безопасным, но это влияет на его эффективность, что требует дополнительных мер поддержания его активности.

Однако относительная безопасность подобных препаратов требует развития альтернативных подходов и возможности применения природных веществ схожего действия. Такими веществами могут быть изотиоцианаты, в больших количествах присутствующие в растениях семейства Крестоцветные. Аллилизотиоцианат (АИТЦ) – вещество натурального происхождения, продукт разложения аллилглюкозинолата (или синигрина), который содержится в ряде растений семейства Крестоцветные. Сообщается, что АИТЦ токсичен для *Globodera rostochiensis* и подавляет развитие ее цист [8].

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования было получение биоразрушаемых гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил и ПКЛ/ММТ/АИТЦ, депонированных оксамилем и аллилизотиоцианатом, соответственно, и исследование их нематодыцидной активности по отношению к ЗКН на сорте картофеля «Красноярский ранний».

В качестве биоразрушаемых материалов для получения композитных гранул использовали поликапролактон (ПКЛ) со средневесовой молекулярной массой (M_w) 80 кДа, степенью кристалличности (Сх) 52 %, температурой плавления ($T_{пл}$) 90 °С (Sigma Aldrich, США). В качестве наполнителя использовали органофильную глину «Монамет-101» – химически модифицированный монтмориллонит (ММТ) («Метаклей», Россия), в виде порошка с размером частиц <125 мкм. В качестве активных нематических веществ для депонирования использовали оксамил (экстрагирован из Видат 5Г, Corteva, США), широко применяемый нематический класса карбаматов, и аллилизотиоцианат (АИТЦ) – органическое вещество природного происхождения, которое, согласно литературным данным, обладает нематическим эффектом (Sigma Aldrich).

Композитные гранулы ПКЛ/ММТ / Оксамил и ПКЛ/ММТ/АИТЦ получали с применением портативного экструдера Brabender GmbH (Германия) при температуре плавления 90 °С. Для получения гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил, полимер предварительно смешивали с глиной в пропорциях 1:1 на измерительном миксере Brabender 50 ЕНТ (Германия) и к полученной смеси добавляли раствор оксамила в метаноле в таком количестве, что его содержание в смеси составляло не менее 7 %. Полученную смесь использовали для получения филамента на экструдере, который затем гранулировали. Так как АИТЦ является летучим веществом, требовалось предварительно его инкапсулировать в наполнитель по методике de Souza et al. [9]. 50 г. АИТЦ и 25 г. ММТ в соотношении 2:1 добавляли в раствор, содержащий 10 г. Tween-80 и 150 мл воды. Смесь перемешивали на магнитной мешалке при 800 об/мин до полной гомогенизации. Затем смесь сушили при 110 °С в течение 8 часов. Полученную смесь с инкапсулированным АИТЦ смешивали с ПКЛ в соотношении 1:1 и использовали для получения филамента на экструдере, который затем гранулировали.

На примере оксамила исследовали выход активного вещества из гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил в почву в лабораторных условиях. 100 мг гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил в трех проворностях помещали в пластиковые контейнеры, предварительно заполненные 50 г. экспериментальной почвы (влажностью 60 %), а затем засыпали сверху дополнительными 50 г. почвы, что в сумме составило 100 г. почвы в каждом контейнере. Контейнеры инкубировали при 20 °С в сухом проветриваемом помещении. Влажность почвы в контейнерах поддерживали регулярными поливами (не реже 1 раза в неделю) водопроводной водой из расчета 50 мл на каждую емкость. Эксперимент проводился в течение 91 суток с 7 экспериментальными точками (7, 21, 35, 49, 63, 77 и 91 сут). Измеряли относительную остаточную массу гранул и остаточное содержание оксамила в гранулах.

Перед исследованием эффективности гранул против *Globodera rostochiensis* непосредственно в почве и в присутствии клубней картофеля, предварительно была выполнена оценка их эффективности против нематод *in vitro*. Оценка была выполнена по методике, описанной у Buda & Cepulyte-Rakauskienė [10]. Нематическую эффективность испытуемых гранул сравнивали с положительными контролями: для гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил в качестве контроля выступал раствор оксамила в метаноле концентрацией 2,1 г/л (разведенный в один, два и три раза, так, что объем 500 мкл соответствует по содержанию АИ трем, двум и одной грануле ПКЛ/ММТ / Оксамил, соответственно); для гранул ПКЛ/ММТ/АИТЦ контролем был раствор АИТЦ в дистиллированной воде концентрацией 192 мл/л (разведенный в один, два и три раза, так, что объем 500 мкл соответствует по содержанию АИ трем, двум и одной грануле ПКЛ/ММТ/АИТЦ, соответственно). Отрицательные контроли – метанол и дистиллированная вода.

Для оценки нематической активности полученных экспериментальных гранул ПКЛ/ММТ/Оксамил и ПКЛ/ММТ/АИТЦ были проведены лабораторные испытания в течение двух месяцев на пророщенных клубнях картофеля сорта «Красноярский ранний», помещенных в почву, предварительно инфицированную золотистой картофельной нематодой *G. rostochiensis*. Золотистая картофельная цистообразующая нематода *Globodera rostochiensis* патотип Ro1 предоставлена Всероссийским пунктом по оценке сортов картофеля на устойчивость к раку и нематоду.

В опытные горшки объемом 0,5 л предварительно вносили почву, цисты *G. rostochiensis* (по 50 цист на горшок) и проросший клубень картофеля. В опытные горшки вносили по 20 мг на горшок гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил, исходя из рекомендуемых дозировок для оксамила (1 кг/га), и по 50 и по 100 мг на горшок гранул ПКЛ/ММТ/АИТЦ. Всего для каждого из двух сортов картофеля исследовали восемь групп (по пять повторностей в каждой). В конце опыта подсчитывали высоту и количество стеблей растений, и количество цист на корнях картофеля внутрилабораторными методами. Осмотр корней проводили без снятия растений под биноклем с 3-кратным увеличением.

В результате работы получены экструзионные гранулы на основе ПКЛ/ММТ / Оксамил и ПКЛ/ММТ/АИТЦ. Гранулы ПКЛ/ММТ / Оксамил имели длину 5–10 мм, толщину 2 мм, шероховатую поверхность и были окрашены в темно-зеленый цвет, который был обусловлен красителем в экстракте оксамила, использовавшегося для получения гранул данного состава. Гранулы ПКЛ/ММТ/АИТЦ имели такие же размеры, как и гранулы ПКЛ/ММТ / Оксамил, но были гладкими и блестящими, и коричневого цвета из-за использованного изотиоционата. Микроскопия гранул показала, что добавление частиц ММТ в гранулы ПКЛ/ММТ / Оксамил приводит к появлению пор, кратеров и трещин в пределах частиц ММТ. В микроструктуре гранул ПКЛ/ММТ/АИТЦ отчетливо видны агломераты ММТ размером 100–250 мкм. В целом, гранулы обоих составов имели плотную и гладкую структуру с порами 70–100 мкм и агломератами ММТ размером до 100–150 мкм. Неупорядоченное распределение ММТ в полимерной матрице привело к образованию смешанной структуры композита.

Исследование выхода оксамила в почву из полученных гранул показало значительные отличия от контрольного коммерческого препарата Видат 5Г. В частности, для полученных гранул был характерен постепенный выход оксамила из матрицы, что отражалось в соответствующем повышении концентрации оксамила в экспериментальной почве. К концу эксперимента (92 сутки), 2,5 мг оксамила вышло из 100 мг исследуемых гранул от теоретически возможных 7,0 мг. Гранулы ПКЛ / Оксамил при этом демонстрировали в целом меньший, по сравнению с ПКЛ/ММТ / Оксамил, выход оксамила в течение всего эксперимента, и на 92 сутки концентрация оксамила для этих гранул была менее 12 мкг/г почвы. Для контрольного препарата «Видат 5Г» максимум выхода наблюдали уже в первой экспериментальной точке (7 суток), концентрация оксамила составляла 13,21 мкг/г почвы. Данный результат показал, что полученный полимерный носитель позволяет продлить период высокой концентрации нематцида в почве. Выход АИТЦ из гранул ПКЛ/ММТ/АИТЦ сравнивали с гранулами ПКЛ/АИТЦ без добавления ММТ в качестве контроля. Так же, как и для гранул с оксамилем, для этих гранул был характерен постепенный выход активного ингредиента. Профили выхода исследуемых гранул и контроля значительно не отличались. На 92 сутки гранулы ПКЛ/ММТ/АИТЦ достигли выхода АИТЦ 8,9 мкг/г почвы. Параллельное определение убыли массы показало, что исследуемые гранулы умеренно деградировали в течение всего срока эксперимента – на 92 сутки остаточная масса гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил составила 60,6 %. Деградация контрольных гранул ПКЛ / Оксамил достоверно не отличалась от ПКЛ/ММТ / Оксамил. Гранулы ПКЛ/ММТ/АИТЦ так же, как и гранулы с оксамилем, умеренно деградировали в течение всего срока эксперимента – на 92 сутки остаточная масса гранул ПКЛ/ММТ/АИТЦ составила 55,6 %. Деградация контрольных гранул ПКЛ/АИТЦ также достоверно не отличалась от ПКЛ/ММТ/АИТЦ.

По результатам исследования нематцидной активности полученных гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил значительный эффект был зарегистрирован уже через 24 часа их экспозиции в планшете с нематодами – дозировки из одной, двух и трех гранул привели к смертности 44, 50 и 75 % нематод, соответственно. Соответствующие контрольные дозировки раствора оксамила в метаноле показали значения лишь незначительно выше – 56, 68 и 81 %. Через 48 и 72 часа экспозиции разница между положительным контролем и гранулами, а также между разными дозировками гранул оказалась еще меньше. В частности, после 72 часов экспозиции дозировки из одной, двух и трех гранул соответствовали 92, 96 и 97 % смертности нематод. Положительный контроль для всех трех дозировок показал стопроцентную смертность. Таким образом, данный эксперимент показал, что полученные полимерные гранулы с депонированным оксамилем сопоставимы по эффективности со свободным препаратом оксамила. Результаты исследования нематцидной активности гранул ПКЛ/ММТ/АИТЦ, как и гранулы, депонированные оксамилем, гранулы ПКЛ/ММТ/АИТЦ в целом показали достаточную нематцидную активность. Через 24 часа экспозиции смертность нематод в присутствии этих гранул составила 35, 32 и 35 % при дозировках одна, две и три гранулы, соответственно. В контрольной группе данные концентрации показали смертность нематод 22, 30 и 35 %. Через 48 часов смертность нематод находилась в пределах 51–64 % в зависимости от дозировки, контроль показывал сопоставимые значения 48–65 %. Через 72 часа экспозиции смертность нематод достигла 92 % для дозировки в три гранулы, при этом соответствующая дозировка свободного АИТЦ показывала 87 %. Из данных результатов можно сделать вывод, что депонированный АИТЦ в некоторой степени обладает более выраженным нематцидным эффектом по сравнению со свободным АИТЦ, однако

этот эффект достигается только на третьи сутки экспозиции. В эксперименте по оценке нематодической активности *in vivo* гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил цисты полностью отсутствовали на корнях отрицательного контроля и присутствовали в единичных количествах на корнях картофеля в почве, обработанной коммерческим препаратом оксамил. При этом внесение гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил в экспериментальные горшки уменьшило число цист в 2,33 раза по сравнению с положительным контролем. Этот эффект можно объяснить пролонгированным действием гранул и постепенным высвобождением оксамил. Достоверных различий в числе стеблей и их длине между контролями, Видат 5Г и гранулами ПКЛ/ММТ / Оксамил обнаружено не было. Исключение составляет положительный контроль сорта Красноярский ранний – для этой группы наблюдалось повышенное число стеблей по сравнению со всеми остальными группами, что может быть косвенным показателем недостатка питательных веществ в растении.

Так же, как и для гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил, к концу эксперимента по оценке нематодической активности гранул ПКЛ/ММТ/АИТЦ корни растений, независимо от группы и сорта картофеля, визуально не отличались. Ожидаемо, цисты полностью отсутствовали на корнях отрицательного контроля. Число цист при этом уменьшилось в 1,6–2,5 раза, причем различие в дозировках и способах внесения (гранулы или раствор) достоверно не повлияло на эффективность – число цист для групп для депонированного АИТЦ находилось в диапазоне 121–171. Предполагается, что увеличение процента депонирования повысит эффективность биопестицида до значений, сопоставимых с таковыми для оксамил и гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил. Достоверных различий в числе стеблей и их длине, так же, как и для гранул ПКЛ/ММТ / Оксамил, не было обнаружено.

Полученные новые знания о создании и исследовании экологических гранул на основе ПКЛ/ММТ с инкапсулированными активными веществами (оксамил, аллилизотиоцианат) будут использованы в материаловедении биоразрушаемых полимеров для сельского хозяйства

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ «Разработка экологических систем на основе биоразрушаемых полимеров с депонированными биологически активными веществами для предотвращения болезней картофеля» № 23-16-00184.

Литература

1. Gowen S.R. Chemical control of nematodes: efficiency and side-effects //FAO Plant Production and Protection Paper (FAO). – 1997. – URL: <https://www.fao.org/3/v9978e/v9978e08.htm> (дата обращения 2022–12–21).
2. Sukhanova A.A., Boyandin A.N., Ertiletskaya N.L. Potato Cyst Nematode Management Strategies: Current Situation and Promising Approaches //ACS Agricultural Science & Technology. – 2022. – DOI:10.1021/acsagscitech.1c00274.
3. Cao L. et al. Biodegradable poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) microcapsules for controlled release of trifluralin with improved photostability and herbicidal activity //Materials Science and Engineering: C. – 2019. – Т. 102. – С. 134–141. – DOI:10.1016/j.msec.2019.04.050.
4. Zhao M. et al. A high-efficient nano pesticide-fertilizer combination fabricated by amino acid-modified cellulose based carriers //Pest Management Science. – 2022. – Т. 78. – №. 2. – С. 506–520. – DOI:10.1002/ps.6655.
5. Xiao D. et al. A temperature-responsive release cellulose-based microcapsule loaded with chlorpyrifos for sustainable pest control //Journal of Hazardous Materials. – 2021. – Т. 403. – С. 123654. – DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.123654.
6. Boyandin A.N., Kazantseva E.A. Constructing slow-release formulations of herbicide metribuzin using its co-extrusion with biodegradable polyester poly-ε-caprolactone //Journal of Environmental Science and Health, Part B. – 2021. – Т. 56. – №. 5. – С. 467–476. – DOI:10.1080/03601234.2021.1911206.
7. Fukushima K., Tabuani D., Camino G. Nanocomposites of PLA and PCL based on montmorillonite and sepiolite //Materials Science and Engineering: C. – 2009. – Т. 29. – №. 4. – С. 1433–1441. – DOI:10.1016/j.msec.2008.11.005
8. Yu Q. et al. Selective nematicidal activity of allyl isothiocyanate //J. Food Agric. Environ. – 2005. – Т. 3. – С. 218–221. – DOI:10.1021/jf200925k
9. de Souza A.G. et al. Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films //International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Т. 164. – С. 1737–1747. – DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.226.
10. Būda V., Čepulytė-Rakauskienė R. The effects of α-solanine and zinc sulphate on the behaviour of potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* //Nematology. – 2015. – Т. 17. – №. 9. – С. 1105–1111. – DOI:10.1163/15685411–00002927

УДК 664.22/27

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ НИЗКОЧАСТОТНОЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА БИОКОНВЕРСИЮ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ОТХОДОВ ЗАГОТОВКИ ЛЬНА

Е.В. Ожимкова, В.В. Орлов

ФГБУ ВО «Тверской государственный технический университет», Тверь, Россия

Сложившаяся в России ситуация в льняной отрасли привела к тому, что текстильная промышленность в процессе переработки льна использует лишь 15–20 % его массы, остальная же часть практически не находит применения и в большинстве случаев сжигается. Таким образом, актуальной является задача разработки эффективных технологий переработки отходов заготовки и переработки льна [1, 2].

Главным препятствием в процессе биоконверсии лигноцеллюлозных растительных остатков является сложность деполимеризации лигнина путем ферментативного гидролиза, что еще больше затрудняет разложение и утилизацию целлюлозы и гемицеллюлозы. Столь низкая эффективность биоразложения лигноцеллюлозы сильно затрудняет крупномасштабное промышленное применение биологического компостирования. Лигноцеллюлоза имеет прочную молекулярную структуру и трудно поддается непосредственному биологическому разложению аэробными микроорганизмами во время компостирования. Следовательно, предварительная обработка является важным способом разрушения структуры тугоплавкой лигноцеллюлозы и последующей деполимеризации лигнина [2].

Ультразвук способствует разрушению эфирных связей между лигнином и гемицеллюлозой, не вызывая изменения химического состава лигноцеллюлозной биомассы. Увеличение продолжительности обработки ультразвуком повышает делигнификацию биомассы, однако чрезмерно длительное использование ультразвукового воздействия может сделать процесс неэкономичным, а также спровоцировать образование нежелательных побочных продуктов. Эффект обработки ультразвуком объясняется улучшенным контактом между растворителем и взвешенными твердыми частицами, а также улучшением массопереноса [3].

В работе в качестве экспериментальных образцов выступили компосты с различными соотношениями источников углерода и азота. При формировании компостной смеси в качестве источника углерода выступали костра и полова льна, а в качестве источника азота – листья крапивы, в связи с широким распространением данного сырья на территории Тверской области. С целью увеличения доступности волокон лигноцеллюлозы для микроорганизмов, готовые смеси подвергали предварительной обработке низкочастотным ультразвуком (30 кГц). Для интенсификации процесса компостирования был осуществлен дополнительный ввод микробиологического удобрения марки «Байкал ЭМ-1», в концентрации 1:200 по отношению к исходному коммерческому концентрату.

Для оценки полноты и эффективности протекания биологической конверсии в пробах экспериментальных компостов контролировались следующие параметры: содержание гуминовых кислот, массовая доля влаги, температура и pH.

Ультразвуковая обработка в 30 кГц позволила интенсифицировать процесс биоконверсии за счет разрушения лигнинуглеводных связей в лигноцеллюлозе и позволила быстрее получить зрелые компосты с более высоким содержанием гуминовых кислот по сравнению с компостами из необработанного сырья.

Литература

1. Advances in physicochemical pretreatment strategies for lignocellulose biomass and their effectiveness in bioconversion for biofuel production/ B. Bikram [etc] // *Bioresource Technology*. – 2023. – Vol. 369. – 128413.
2. Advanced composting technologies promotes environmental benefits and eco-efficiency: A life cycle assessment / Z. Liu [etc.] // *Bioresour. Technol.* – 2022. – Vol. 346. – 126576.
3. Lignocellulose biomass bioconversion during composting: Mechanism of action of lignocellulase, pretreatment methods and future perspectives/ D. Wu [etc.] // *Chemosphere*. – 2022. – V.286. – P. 1–15.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УСЛОВИЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ОБРАБОТКИ ЯГОД ЧЕРНИКИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ СОКА

Н.Ю. Каримова, Е.В. Алексеенко, Ю.З. Горьковая

ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет», Москва, Россия

Введение

Ферментные препараты (ФП), как биокатализаторы, находят сегодня широкое применение в различных отраслях пищевой промышленности. Использование ФП позволяет решить ряд важнейших стратегических задач отраслей РФ: создание наукоёмких, эффективных и ресурсосберегающих технологий, сокращение количества побочных и вторичных продуктов, не подлежащих переработке, получение широкого спектра пищевых продуктов и ингредиентов с высокими качественными и потребительскими характеристиками.

Особое значение имеют ФП в технологиях переработки ягодного сырья, в том числе, при получении сока. Высокая специфичность действия применяемых ФП обеспечивает разрушение основных структурных полисахаридов клеточной стенки (пектина, гемицеллюлозы и целлюлозы), способствуя увеличению выхода сока, повышению экстрактивной способности растительной ткани и обогащению сока дополнительными количествами ценных природных компонентов [1, 2]. В этом контексте целесообразным считается использование ФП пектолитического, целлюлолитического и гемицеллюлазного действия с соответствующим набором ферментативных активностей [4–8].

Современные тенденции в развитии плодо – и ягодоводства в России демонстрируют актуальность технологий переработки отечественного ягодного сырья, среди которого особенно следует выделить чернику. Ягоды черники – дикорастущий сырьевой потенциал РФ, который, в силу большого разнообразия полезных для здоровья человека пищевых, эссенциальных и минорных компонентов (органических кислот, пищевых волокон, биоактивных полифенольных соединений, в том числе антоцианов, катехинов, фенолокислот, а также витамина С и минеральных веществ) имеют доказанное благоприятное воздействие на организм человека.

Для создания эффективной технологии переработки ягод при получении сока следует учитывать целый ряд факторов: специфику химического состава сырья и действия ферментов, способ предобработки сырья, дозы применяемых ферментных препаратов, температура, pH, длительность обработки. Оптимизации условий ферментативной обработки ягод черники будет являться залогом успешной реализации технологии переработки ягод черники при получении сока.

Цель работы – определение оптимальных условий ферментативной обработки ягод черники при получении сока с применением методов математического моделирования.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись ягоды дикорастущей черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus*), собранные в Карелии в 2021 году, подвергнутые «шоковой» заморозке. В работе использовали ферментные препараты различной субстратной специфичности (пектолитические, целлюлолитические и гемицеллюлазного действия): Pectinex Yieldmash Plus (Novozymes A/S, Дания) (продуцент *Aspergillus Oryzae*) с доминирующей пектиэстеразной активностью, комплексный ферментный препарат Пектофоедин П10х (ООО «Агрофермент», Россия) (продуцент *Aspergillus foetidus*), Пектин-лиаза (ИБФМ РАН, Россия) (продуцент *Penicillium canescens*), Мацеробацеллин (ИБФМ РАН, Россия) (продуцент *Bacillus circulans*), Celluclast BG (Novozymes A/S, Дания) (продуцент *Trichoderma reesei*), комплексные ФП ЦеллоЛюкс® -F (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия), Фидбест® - W 2 группа (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия), Фидбест® VGPPro (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия), Целловирин (ИБФМ РАН, Россия), Целлозим премиум (ООО «БИОТЕХНОАЛЬЯНС») (продуцент *Penicillium canescens*). Всего в работе было задействовано 10 ФП, из них 8 – отечественного производства.

При проведении исследований ягоды черники размораживали в холодильнике при температуре +4 °С в течение 6 часов. Размороженные ягоды измельчали и полученную массу помещали в термостат при температуре 45 °С, периодически перемешивая и контролируя температуру мезги термометром. При достижении температуры мезги 45 °С вводили ферментный препарат в дозировках 0,005; 0,01; 0,02; 0,03 и 0,04 % к массе ягодной мезги. Вели гидролиз при температуре 45 °С, через определенные

промежутки времени (30, 60, 90, 120, 150 минут) фермент инактивировали нагреванием и отжимали сок прессованием. Определяли выход сока. В качестве контрольного варианта использовали пробу сока, которая была получена при тех же условиях, но без применения ферментного препарата.

Экспериментально полученные данные были собраны в массив и обработаны при помощи пакета прикладных программ Statistica 10. Использовали метод множественной регрессии. Было установлено наличие взаимосвязей и их характер – это продолжительность обработки и дозировка ферментного препарата, которые являются независимыми величинами. Критерием эффективности или зависимой величиной являлся выход сока (%). В программе для обработки данных использовали функцию «построение трехмерного графика». По каждому опытному варианту обработки (с различными ферментными препаратами) построены графики и получены уравнения множественной регрессии. Была проведена оценка значимости коэффициентов полученных уравнений и адекватности моделей: рассчитан коэффициент детерминации, являющийся статистической мерой согласия, позволяющей определить, насколько модель соответствует данным ее построения. Для проверки адекватности множественной регрессионной модели использовали критерий Фишера.

Результаты и их обсуждение

На основании проведенных исследований выявлены оптимальные условия ферментативной обработки ягод черники при получении сока. Показано, что применение выбранных ФП способствует увеличению выхода сока на 6,7–16,7 %, при этом длительность обработки варьирует от 60 до 150 минут (таблица 1).

Таблица 1 – Оптимальные условия проведения ферментативной обработки

Наименование ФП	Время, мин	Дозировка ФП		Увеличение выхода сока на, %
		к массе мезги, %	Ед. А/г S	
Pectinex Yieldmash Plus	60	0,04	0,33 ед. РЕУ/г пектина	15
Celluclast BG	150	0,005	4,7 ед. ЦлС/г целлюлозы	10
	120	0,01	9,4 ед. ЦлА/г целлюлозы	
Фидбест® -W	90	0,03	61,7 ед. β-ГлА/г целлюлозы	16
ЦеллоЛюкс® -F	90	0,03	17,6 ед. ЦлС/г целлюлозы	16
Мацеробацеллин	120	0,04	26660 ед. ПектатлА/г пектина	13
Целлозим премиум	150	0,03	26,5 ед. ЦлС/г целлюлозы	10
Целловиридин	150	0,03	49 ед. ЦлС/г целлюлозы	13
	120	0,04	66 ед. ЦлС/г целлюлозы	
Фидбест® VGPro премиум	120	0,04	41 ед. β-ГлА/г целлюлозы	6,7
Пектин-лиаза	150	0,03	333 ед. Пектин-лС/г пектина	16,7
	120	0,04	444 ед. Пектин-лС/г пектина	
Пектофоетидин П10х	90	0,04	ПгС/г пектина	13

Примечательно, что использование ФП различной субстратной специфичности при определенных условиях позволяет достичь практически одинаковых результатов. Так, обработка мезги ягод черники индивидуальными ФП гемицеллюлазного и целлюлолитического действия Фидбест® -W в дозировке 0,03 %, что соответствует 61,7 ед. β-ГлА и 17,6 ед. ЦлС /г целлюлозы и ЦеллоЛюкс® -F – 17,6 ед. ЦлС/г целлюлозы соответственно, при длительности 90 минут имеет такой же эффект как применение пектолитического препарата Пектин-лиазы в той же концентрации (0,03 % или 333 ед. Пектин-лС/г пектина) и длительности обработки 150 минут: выход сока увеличивается на 16 и 16,7 % соответственно (рисунок 1, рисунок 2).

Результаты, полученные с применением другого пектолитического ФП Pectinex Yieldmash Plus с доминирующей пектиэстеразной активностью, лишь немногим уступают лучшим вариантам: увеличение выхода сока фиксировали на уровне 14,7 %, при дозировке 0,04 % (0,33 ед. РЕУ/г пектина) и уменьшенной в 2,5 раза продолжительности гидролиза (60 минут). Подобную аналогию можно проследить на примерах индивидуального применения препаратов Целловиридин и Мацеробацеллин в концентрациях 0,04 % (66 ед. ЦлС/г целлюлозы и 26660 ед. Пектат-лА/г пектина соответственно) и длительности 120 минут и пектолитического препарата Пектофоетидин П10х в той же самой дозировке (0,04 % или 133 ПгС/г пектина), но уменьшенной (на 25 %) длительности обработки.

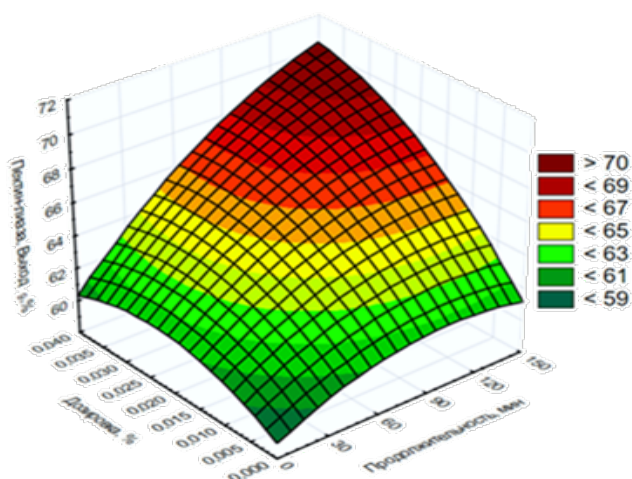


Рисунок 1 – Влияние ферментного препарата Пектин-лиаза на выход сока при различной дозировке и продолжительности

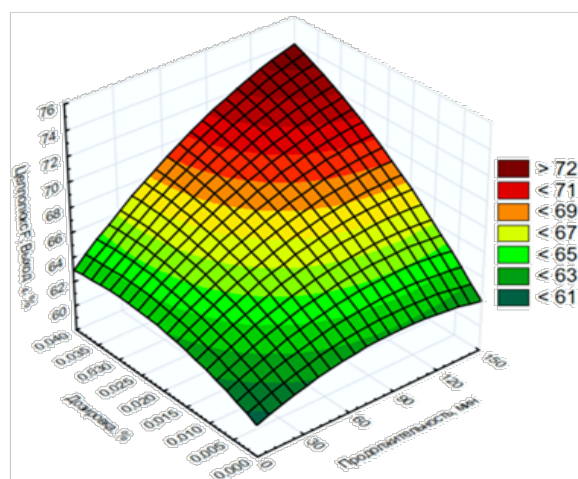


Рисунок 2 – Влияние ферментного препарата ЦеллоЛюкс® -F на выход сока при различной дозировке и продолжительности

Заключение

Анализ полученных результатов показывает, что использование ферментных препаратов для обработки ягод черники при получении сока позволяет увеличить его выход. С применением методов математического моделирования определены условия ферментативной обработки ягод черники при получении сока с использованием ФП различной субстратной специфичности. Однако, как показывают результаты, при оценке эффективности применения ФП следует учитывать особенности строения клеточной стенки ягод черники, качественный и количественный состав основных структурных полисахаридов, что и будет предопределять целесообразность использования ФП с основным и сопутствующим набором ферментов, осуществляющих гидролитическое расщепление биополимеров, сдерживающих выход сока. С этой точки зрения эффективным представляется создание мультэнзимных синергетических композиций ФП, что и будет реализовано в предстоящей работе.

Литература

1. М.А. Кожухова, А.Н. Теркун, С.Е. Рожков Биотехнологические методы в производстве плодовоовощных соков и нектаров // Известия ВУЗов. Пищевая технология. – 2003. – № 4. – С. 5–9.
2. Sonia Sharma, Alka Sagar, Saurabh Singh Yadav, Shalini Rai Production of value added products from fruit juice residues using enzyme technology // Value-Addition in Agri-food Industry Waste Through Enzyme Technology. – 2023 – P. 221–236 <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89928-4.00027-4>
3. Методические указания к лабораторным работам № 1–4 по дисциплине «Современные технологии обработки информации» для бакалавров направления 152200 «Наноинженерия» (профиль «Инженерные нанотехнологии в приборостроении») очной формы обучения / ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный технический университет»; сост. К.А. Разинкин. – Воронеж, 2014. 70 с.
4. Колотий, Т.Б., Хатко З.Н. Аналитические характеристики пектина из некоторых видов дикорастущих плодов и ягод предгорной зоны Адыгеи // Новые технологии. – 2012. – № 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/analiticheskie-harakteristiki-pektina-iz-nekotoryh-vidov-dikorastuschih-plodov-i-yagod-predgornoj-zony-adygei> (дата обращения: 16.07.2022).
5. Типсина, Н.Н., Мучкина Е.Я., Струпан Е.А., Коршунова Т.В. Исследование пищевой ценности порошка черники обыкновенной // Вестник КрасГАУ. – 2010. – № 5. – С. 158–162.
6. Попов, И.А., Максимов И.В. Манжесов В.И. Влияние ферментных препаратов на выход сока // Технологии и товароведение сельскохозяйственной продукции. – 2017. – № 2 (9). – С. 102–144.
7. Pantelidis G., Vasilakakis M., Manganaris G., Diamantidis Gr. Antioxidant Capacity, Phenol, Anthocyanin and Ascorbic Acid Contents in Raspberries, Blackberries, Gooseberries and Cornelian Cherries // Food Chemistry. – 2007. – V. 102. – I. 3. – P. 777–783. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.021>
8. Аполинарцева, И.К., Батулин С.О. Использование ферментативной мацерации ягод для получения семян с высоким качеством у крупноплодной земляники (FRAGARIA x ANANASSA DUCH.) // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 12. – С. 27–29.

УДК 663.81

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОМБИНИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО И СПЕЦПИТАНИЯ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Е.И. Курбатова, Е.В. Костылева, А.С. Середина, Н.В. Цурикова

*ВНИИПБТ – филиал ФГБУН "Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи",
Москва, Россия*

В настоящее время растительное сырье перерабатывается с получением ограниченного числа целевых продуктов, что не обеспечивает рационального использования сырьевых ресурсов в результате неполного извлечения содержащихся в них экстрактивных веществ. Кроме того, недостаточная степень переработки растительных полимеров приводит к нестабильности многокомпонентной системы получаемых экстрактов. Оценку эффективности применения ферментных препаратов (ФП) при переработке плодово-ягодного сырья целесообразно проводить исходя из двух факторов: 1) степени деструктивного воздействия ФП на клеточные стенки (КС) плодово-ягодной ткани, отражающейся на таких показателях, как сокоотдача, извлечение фенольных компонентов и экстракция общих растворимых веществ как показатель вкуса – ароматической составляющей целевого продукта, 2) влияния ФП на качественные показатели непосредственно клеточного сока, в том числе, снижение его динамической вязкости.

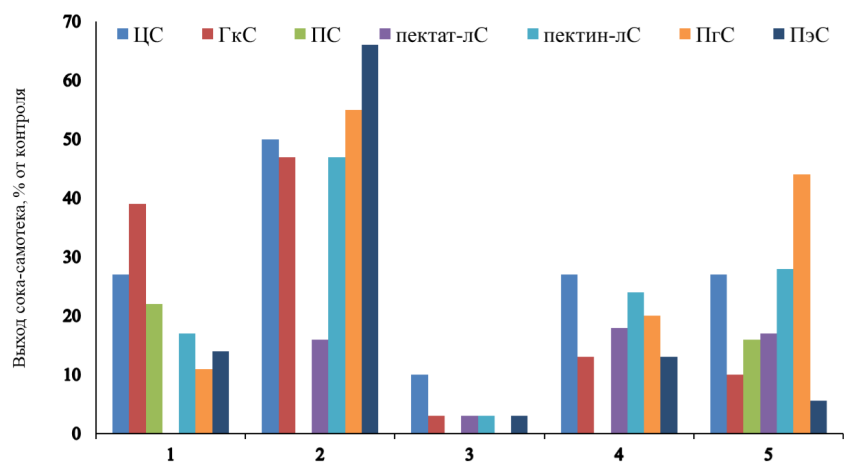
В настоящее время рынок ФП испытывает недостаток биокатализаторов, рекомендуемых для обработки растительного, в т. ч. плодово-ягодного, сырья в результате ухода западных производителей ранее широко востребованных ФП. С целью реализации плана по импортозамещению продукции, согласно приказу Минпродторга России от 15 ноября 2022 года № 4743 проведены исследования, направленные на изучение эффективности отечественных ФП в технологии переработки наиболее часто используемых в промышленности видов сырья: яблоки, черная смородина, черноплодная рябина, калина, облепиха.

В работе использовали ФП, произведенные на основе штаммов-продуцентов ферментов, полученных как непосредственно во ВНИИ пищевой биотехнологии, так и при сотрудничестве с МГУ им. М.В. Ломоносова, ФИЦ Биотехнологии РАН, Институтом биохимии и физиологии микроорганизмов (г. Пущино). В качестве ферментов полигалактуроназного (PrC) и пектинэстеразного (ПэС) действия на пектиновые вещества рассматривали препарат Пектофоетидин, также в состав мультиэнзимного комплекса для разрушения пектина были введены ферменты пектин-лиазного (пектин-лС) и пектат-лиазного (пектат-лС) действия. Для биокатализа структурных полисахаридов – клетчатки и гемицеллюлоз, использовали ФП, полученные из микромицетов *Trichoderma* и *Penicillium*, обладающие целлюлолитической (ЦС) и гемицеллюлазной (ГкС) активностью. Также оценивали действие отечественного препарата кислой протеазы (ПС) – Протооризин и комплексных ФП Глюканофоетидин и Ксилоризин (табл. 1).

Таблица 1. Ферментные препараты, полученные на основе отечественных штаммов микроорганизмов

Препараты для разрушения пектиновых веществ	Вспомогательные ферментные препараты	Комплексные препараты
Пектофоетидин – препарат, эндо- и экзо-полигалактуроназы, полученный на основе <i>Asp. foetidus</i> (ВНИИПБТ, МГУ); Мацеробациллин, содержащий преимущественно ферменты пектат- (80 %) и пектин-лиазного действия (20 %), полученный на основе <i>Bac. circulans</i> ; Поликанесцин – препарат пектин-лиазы, полученный из <i>Pen. canescens</i> (МГУ, ИНБИ им. Баха)	Бета – глюканаза – источник гемицеллюлаз, полученный из <i>Tr. longibrahmatum</i> (МГУ); Целлозим плюс – преимущественно содержащий целлюлолитический комплекс ферментов, полученный на основе <i>Tr. viride</i> (МГУ); Протооризин – комплексный препарат кислых пептидаз на основе <i>Asp. oryzae</i> (ВНИИПБТ)	Глюканофоетидин – препарат, обладающий комплексом ферментов пектолитического и карбогидразного действия, полученный на основе <i>Asp. foetidus</i> (ВНИИПБТ). Ксилоризин – препарат, обладающий ксиланазной, эндоглюканазной и пектиназной активностью, получен из <i>Tr. reesei</i> (ВНИИПБТ)

На основании результатов проведенных исследований по оценке эффективности действия индивидуальных ферментов на плодово-ягодное сырье как на выход жидкой фракции (рис. 1), так и на извлечение экстрактивных веществ, разработаны требования к составу ферментных систем для каждого вида сырья: для яблок: полигалактуроназа+пектинэстераза (Пектофоетидин) в комплексе с бета-глюканазой или Глюканофоетидин индивидуально; для черной смородины: полигалактуроназа+пектинэстераза (Пектофоетидин) в комплексе с целлюлазой (Целлозим плюс) или Ксилоризин индивидуально; для калины и облепихи: пектин-лиаза (Поликанесцин) в комплексе с целлюлазой (Целлозим плюс); для черноплодной рябины: препарат пектат-лиазы (Мацеробациллин) в комплексе с целлюлазой (Целлозим плюс).



1-яблоки; 2-черная смородина; 3-черноплодная рябина; 4-калина; 5-облепиха

Рисунок 1. Эффективность отечественных ФП при обработке плодово-ягодного сырья

Биокатализ структурообразующих полимеров КС, а также снижение вязкости жидкой фракции позволил значительно повысить выход соков и морсов. Изучение биохимического состава полученных в результате использования отечественных ФП ферментализатов плодово-ягодного сырья показало значительное увеличение содержания экстрактивных веществ (редуцирующих сахаров на 10,8–24,5 %, органических кислот 5,5–33,0 %, фенольных соединений на 8,0–45,0 %), а также биологически ценных компонентов (биофлавоноидов, катехинов, стероидов, токоферолов, витаминов). Повышение уровня данных компонентов в составе полуфабрикатов позволяет рекомендовать их к использованию при производстве функциональных напитков, а также при производстве продуктов для спецпитания.

Научно-исследовательская работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2022–2024 гг. (тема FGMP-2022–0006)

УДК 606:637.5

**НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ
ВНУТРЕННОСТЕЙ РЫБ В ТЕХНОЛОГИЯХ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ****Т.Н. Данильчук, А.В. Югай, В.В. Ахметьева, Д.В. Новикова***ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Москва, Россия*

В последние десятилетия не теряет своей актуальности проблема рационального использования мясного сырья. Важным является решение задачи производства широкого ассортимента мясных и мясосодержащих продуктов в объеме, полностью обеспечивающем потребности населения в разнообразной и высококачественной продукции [1]. В этой связи перспективным представляется развитие технологий глубокой переработки мясного сырья, в том числе с использованием ферментных препаратов. Использование экзогенных протеаз для размягчения (тендеризации) мяса является перспективным методом улучшения качества мяса. Еще одно направление в использовании ферментов – обработка мясного сырья с жесткой консистенцией. В процессе протеолиза происходит размягчение соединительной ткани, что влечет за собой улучшение функционально-технологических свойств мясного сырья, органолептических показателей готового продукта, сокращается длительность термической обработки.

В настоящее время применяют ферменты растительного (папаин, бромелайн и фицин), животного (пепсин, трипсин), микробного (например из *Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis* и др.) происхождения [2–6], а также ферменты, полученные из внутренних органов гидробионтов [7].

Протеолитические ферменты внутренностей рыб обладают достаточно высокой активностью [8, 9] и находят широкое применение в различных областях промышленности [10–12]. При обработке ферментами вторичного сырья, образующегося после разделки гидробионтов, можно получать гидролизаты с функциональными свойствами [13, 14].

Значение ферментных технологий возрастает в связи с нехваткой мясного сырья, необходимостью привлечения нетрадиционных источников и их комбинирования, а также в связи с возрастающим количеством мяса PSE, DFD и RSE. Использование ферментов может решить аналогичные проблемы в молочной и рыбной промышленности.

Несмотря на то, что потребность в ферментах в нашей стране достаточно велика, производство ферментов в промышленных масштабах практически отсутствует. В связи с этим, представляются интересными исследования в области использования ферментов рыб в технологии мясных продуктов, в частности, для получения продукта с нежной консистенцией и хорошими органолептическими свойствами из сырья с высоким содержанием соединительной ткани.

Кроме того, деятельность по переработке рыбы и морепродуктов сопровождается образованием значительного количества отходов, побочных продуктов и отходов, что приводит к негативным экономическим и экологическим последствиям. Управление устойчивым использованием ресурсов морепродуктов, в том числе переработка внутренностей рыб, имеет немаловажное значение для предотвращения экологических проблем и обеспечения ресурсосбережения.

Целью настоящей работы являлось выделение ферментов, обладающих протеолитическим действием, из желудков рыб, исследование их ферментативной активности и выявление возможности использования этих ферментов для модификации свойств мяса с большим содержанием соединительной ткани.

В качестве объектов исследования выбраны: желудки сельди атлантической; экстракты, полученные из желудков сельди атлантической; мясо голени индейки.

Сельдь атлантическая имеет большое промысловое значение. Она плавает огромными стаями. Не существует других рыб, образующих столь значительные по количеству особи косяки. Ловят сельдь круглогодично. Взрослая сельдь поедает мелких ракообразных, мальков и молодь более мелких рыбок, так что условно может называться хищником. Такое питание позволяет сельди дорасти до внушительных размеров и предопределяет выработку в желудках рыб ферментов, обладающих значительной протеолитической активностью.

Мясо индейки имеет уникальный биохимический состав, при достаточном количестве калорий содержит мало холестерина и считается диетическим. Спрос на мясо индейки ежегодно увеличивается: в 2021 году потребление мяса индейки на душу населения в России составляло 2,6 кг в год, а в 2022 году выросло до 3 кг.

Общий объем производства мяса индейки в России в 2022 году во всех хозяйствах увеличился на 3,5 % до 414,5 тыс. тонн. Однако по сравнению с курятиной мясо индейки имеет более высокую стоимость. По данным исследовательского агентства ГФК Рус, мясо индейки сегодня продается лишь в 45 % продуктовых магазинов, а у курятины этот показатель вдвое выше – 94,5 %.

Сделать продукты из мяса индейки доступнее для широкого круга потребителей можно с использованием для их производства более дешевых частей тушки индейки, в частности голени индейки. Голень индейки содержит значительное количество соединительной ткани, в связи с чем для производства из нее продуктов, обладающих высокими потребительскими свойствами, целесообразно использовать обработку мясного сырья ферментами [4]. В научной литературе для биотрансформации мяса голени индейки предлагается использовать либо ферментные препараты, полученные путем микробного синтеза, либо препараты, полученные из желудков крупного рогатого скота. Интересным с научной и практической точки зрения является изыскание способов модификации свойств жесткого мясного сырья с использованием ферментов, выделенных из желудков рыб.

Экстракт фермента получали следующим образом: желудки рыб отделяли от других органов, тщательно промывали в прохладной проточной воде, делали надрез, извлекали остатки корма, лишние примесей и снова промывали. После второй промывки измельчали. Далее сырье помещали в чистую емкость, добавляли воду и немного 9-ти % уксуса для того, чтобы повысить кислотность среды. Раствор оставляли на 30 мин., затем фильтровали. Протеолитическую активность экстракта определяли методом Ансона по ГОСТ 20264.2–88 «Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности».

Полученный экстракт использовали для обработки мяса голени индейки. Мясо индейки отделяли от костей и помещали в экстракт. Продолжительность обработки варьировали от 1 до 4 часов. Исследовали функционально-технологические и структурно-механические свойства мяса. После обработки мясо подвергали варке в течение 50 мин. Готовый продукт имел характерный белый цвет, волокна были хорошо видны. Бульон имел слабый рыбный аромат. Вкус мяса проверяли по органолептическим показателям.

Водосвязывающую способность (ВСС) оценивали по методу Грау в модификации ВНИИМП. Влагоудерживающую способность (ВУС) определяли по массе выделившейся влаги в процессе нагревания образца на водяной бане при температуре кипения воды с использованием молочного жиромера. Предельное напряжение сдвига (ПНС) образцов исследовали методом пенетрации с использованием пенетromетра ПМДП конусообразной формы. Для определения показателя pH использовали pH метр марки pH-410 со стеклянным электродом. Анализ органолептических свойств готовых продуктов проводили в соответствии с ГОСТ 9959 «Продукты мясные. Органолептический метод определения показателей качества». Оценивали внешний вид, цвет, запах (аромат), вкус. Проведено исследование микробиологических показателей готового продукта.

Исследование протеолитической активности (ПА) экстрактов из желудков сельди показало, что экстракты обладают достаточно высокой протеолитической активностью, уровень которой в значительной степени зависит от pH среды (таблица 1) – чем ниже pH, тем более активен фермент.

Таблица 1. Результаты определения протеолитической активности (ПА).

Кислотность среды	pH 5,5	pH 6,5	pH 7,2
ПА, усл. ед./мл	250	120	90

Данные экспериментов по определению функционально-технологических и структурно-механических свойств мяса голени индейки представлены в таблице 2.

Из таблицы видно, что обработка мяса голени индейки экстрактом из желудков сельди атлантической приводит к улучшению свойств мясного сырья и готового продукта. В зависимости от продолжительности выдержки в экстракте ВСС увеличивается на 1–12,5 %, а ПНС снижается в 2–7 раз. Особенно эффективно действие фермента улучшает свойства готового продукта.

Органолептическая оценка готового продукта показала, что внешний вид, цвет, запах и вкус продукта, полученного из мяса, подвергнутого биотрансформации, соответствует ГОСТ 9959 «Продукты мясные. Органолептический метод определения показателей качества».

Таблица 2. Свойства мяса голени индейки до и после биотрансформации.

Образец	ВСС, %	ВУС, %	ПНС*, кПа
Контроль	48	26	26,7
№ 1 (1 час выдержки в экстракте)	52	28	15,5
№ 2 (2 часа выдержки в экстракте)	53	27	10,9
№ 3 (3 часа выдержки в экстракте)	54	26	5,2
№ 4 (4 часа выдержки в экстракте)	53	27	3,5
*Исследовали сваренное мясо			

Результаты микробиологического исследования показали отсутствие в готовом продукте бактерий группы кишечных палочек, стафилококков и сальмонелл.

Таким образом, на основании проведенных экспериментов можно сделать вывод о том, что ферменты, выделенные из желудков сельди атлантической, безопасно и благоприятно влияют на функционально-технологические и структурно-механические свойства мяса с большим содержанием соединительной ткани. Такой технологический прием позволяет повысить ценность сырья, улучшить качество мясных продуктов, расширить ассортимент недорогих и биологически ценных продуктов.

Литература

1. Коденцова, В.М. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы / В.М. Коденцова, О.К. Вржесинская, Д.В. Рисник [и др.] // Вопросы питания. – Т. 86. – 2017. – № 4. – С. 113–124.
2. Liu, F.Y. The industry development of papain and bromelain / F.Y. Liu, J.S. Liao, J.R. Qi, P.F. Tang // Science and Technology of Food Industry. – 2008. – V. 7. – P. 91.
3. Калинин, Т.П. Действие ферментных препаратов на протеолиз мяса несозревающих рыб / Т.П. Калинин, С.В. Синокова, Т.Н. Слуцкая // Рыбное хозяйство. – 1989. – № 11. – С. 78–81.
4. Данильчук, Т.Н. Нетрадиционные подходы к переработке мяса птицы / Т.Н. Данильчук, Г.Г. Абдрашитова, Д.А. Русалиева [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2019. – № 1. – С. 35–46.
5. Касьянов, Г.И. Технология продуктов питания для людей пожилого и преклонного возраста / Г.И. Касьянов, А.А. Запорожский, С.Ю. Юдина. – Ростов-на-Дону: Изд. центр "МарТ", 2001. – 192 с.
6. Kristinsson, H.G. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties / H.G. Kristinsson, B.A. Rasco // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2000. – V. 40. – P. 43–81.
7. Артюхов, А.А. Ферментный препарат из гепатопанкреаса промысловых видов крабов и способ его получения / А.А. Артюхов, Н.И. Мензорова, Э.П. Козловская [и др.] // патент RU, 2004. – Опубликовано: 2006.07.20 г.
8. Баженов, Е.А. Исследование ферментного препарата из пищеварительных органов пресноводной форели ручьевой / Е.А. Баженов, Л.С. Байдалинова, Т. Гримм // Вестник Международной академии холода. – 2022. – № 3. – С. 27–28.
9. Филиппов, А.А. Влияние органических загрязнителей на пищеварительные ферменты рыб (обзор) / А.А. Филиппов, И.Л. Голованова, А.И. Аминов // Биология внутренних вод. – 2013. – № 2. – С. 78–84.
10. Fraatz, M.A. Food and feed enzymes / M.A. Fraatz, M. Rühl, H. Zorn // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. – 2014. – V. 143. – P. 229–256.
11. Jemli, S. Biocatalysts: application and engineering for industrial purposes // S. Jemli, D. Ayadi-Zouari, H.B. Hlima, S. Bejar // Crit. Rev. Biotechnol. – 2016. – V. 36. – P. 246–258.
12. Sana, B. Marine microbial enzymes: current status and future prospects, in Springer Handbook of Marine Biotechnology / B. Sana. – Berlin: Springer-Verlag: 2015. – P. 905–917.
13. Nguyen, H.T.M. Enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products using protamex protease / H.T.M. Nguyen, K.S.B. Sylla, Z. Randriamahatody et al. // Food Technol. Biotechnol. – 2011. – V. 49. – P. 48–55.
14. Пивненко Т.Н. Ферментативные гидролизаты из гидробионтов Тихого океана как основа для создания биологически активных добавок к пище и продуктов функционального питания: монография. – Владивосток: Дальнаука, 2015. – 160 с.

ИНФОРМАЦИОННО-СОВЕТУЮЩАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ НА ПРИМЕРЕ РЕЦЕПТУР ПЛАВЛЕННЫХ СЫРОВ**О.Н. Мусина^{1,2}, Е.М. Нагорных²**¹ ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», Россия² ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», Россия

Современные методы проектирования рецептур, основанные на принципах пищевой комбинаторики, должны использовать возможности цифрового инструментария, в том числе нейросетей, для решения рецептурных задач по созданию продуктов с желаемым набором характеристик и без неоправданного перерасхода ингредиентов. Поэтому разработка цифрового инструментария, адаптированного к потребностям пищевой отрасли при разработке новых пищевых систем с желаемыми характеристиками, в том числе плавленых сыров, является актуальным и перспективным направлением [1–6].

Цель работы – разработка информационно-советующей системы для технолога пищевого производства, необходимая при проектировании пищевых систем и совершенствовании рецептур многокомпонентных пищевых продуктов.

Информационно-советующие системы обеспечивают формирование множества альтернатив принятия решений по управлению объектом, в нашем случае – советы-решения по вариантам рецептур пищевых систем. Технолог пищевого предприятия выбирает конкретный вариант из предложенных альтернатив с учетом своих знаний технологии и опыта работы с конкретным видом пищевой продукции.

Цель работы согласуется с основными приоритетами научно-технологического развития Российской Федерации, отраженными в «Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации», утвержденной Указом Президента РФ от 01.12.2016 г. № 642, а именно: в части пункта «г» – создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания и пункта «а» – переход к передовым цифровым производственным технологиям, создание систем обработки больших объемов данных, машинного обучения и искусственного интеллекта.

Для достижения поставленной цели проанализированы актуальные пути цифровой трансформации пищевой отрасли и на основе методов Data Science и Machine Learning разработана информационно-советующая система для проектирования пищевых систем, включающая [7–14]: информационную систему «Химический состав продовольственного сырья и пищевых продуктов», информационную систему «Плавленые сыры: отечественные патентные документы», информационную систему «Рецептуры плавленых сыров»,

Информационную систему «Нормы физиологических потребностей в энергии, пищевых и биологически активных веществах для различных групп населения», а также разработана и обучена нейросеть для проектирования пищевых систем на примере плавленых сыров.

Все этапы анализа данных и машинного обучения проводились посредством самостоятельно написанной программы на языке программирования Python.

Нами разработана нейросеть, использующая обучение с учителем (рис. 1), которая получила входные обучающие данные, содержащей метки правильных и неправильных ответов (качество рецептуры QUALITY), о рецептурах плавленых сыров и показателей для рецептур. На основе базы данных «Рецептуры плавленых сыров» [13] подготовлен файл, включающий рецептуры и показатели, которые используются в рецептурах данного готового продукта. В нашем наборе входных обучающих данных участвовало 869 рецептур плавленых сыров, все значения ненулевые, не имеют пропусков, все типы корректные и являются числовыми. Если показатель для рецептуры не задан, его значение приравнялось к 0. Также в файл было включено новое поле – качество рецептуры (QUALITY). Для данного обучения нейронной сети качество рецептуры было заполнено случайной генерацией, где собственным рецептурам присваивалось значение от 1 до 5, а рецептурам из официальных источников – от 6 до 10. Таким образом, создана нейронная сеть, у которой 9 нейронов на входном слое, 2 скрытых слоя по 65 нейрона и выходной слой, состоящий из 1 нейрона.

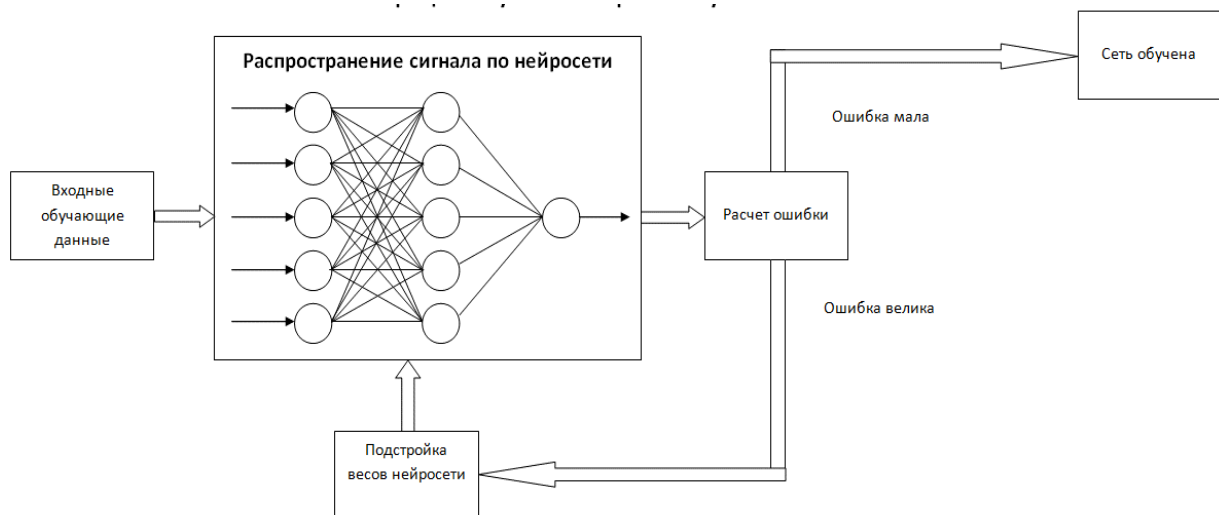


Рисунок 1 – Процесс обучения нейросети с учителем

Для визуального анализа данных, содержащихся в наборе, используют гистограммы столбцов. Для определения зависимостей между столбцами используют матрицу корреляции (рис. 2). Данная матрица визуализирует линейную зависимость между значениями столбцов с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Значение данного коэффициента принимается в пределах от -1 до 1, где -1 указывает на отрицательную линейную корреляцию между 2 столбцами, 1 – положительную линейную корреляцию между 2 столбцами, 0 – отсутствие линейной корреляции между 2 столбцами. Чем больше по модулю коэффициент корреляции – тем сильнее связь между двумя переменными.

Следует обратить внимание на то, что диагональные значения в матрице корреляции равны 1, потому что корреляция между переменной и самой собой всегда равна 1 и на то, что матрица симметрична относительно диагональных значений, поэтому рассматриваем, нижнюю треугольную часть матрицы. Для удобства пользователя данная матрица окрашивается в разные цвета в зависимости от коэффициента корреляции.

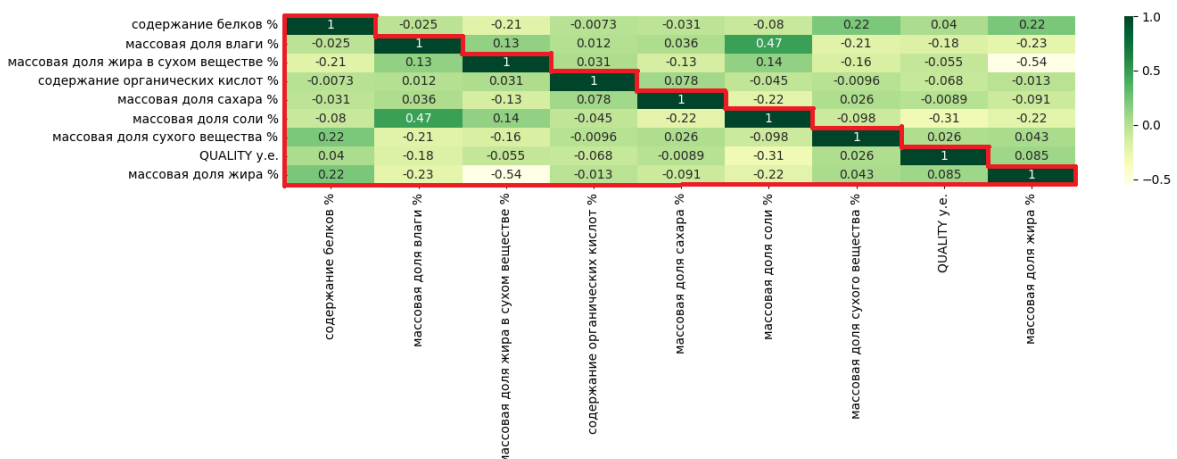


Рисунок 2 – Матрица корреляции данных

После анализа данных запускаем обучение нейросети: из набора данных, содержащего 869 рецептов плавленых сыров, выделяем обучающую выборку, содержащую 695 рецептов (80 % от общего количества). Выделяем тестовую выборку, которая составляет 87 рецептов (10 % от общего количества рецептов). Выделяем проверочную выборку, которая составляет 87 рецептов (10 % от общего количества рецептов). В среднем на небольших наборах данных, таких как наш, проводят 100 циклов обучения.

В результате получаем гистограммы зависимости количества рецептов от балла качества рецептуры обучающей выборки, количества рецептов от балла качества рецептуры тестовой выборки, количества рецептов от балла качества рецептуры проверочной выборки и график средней абсолютной ошибки от количества циклов для обучающей и проверочной выборки (рис. 3).

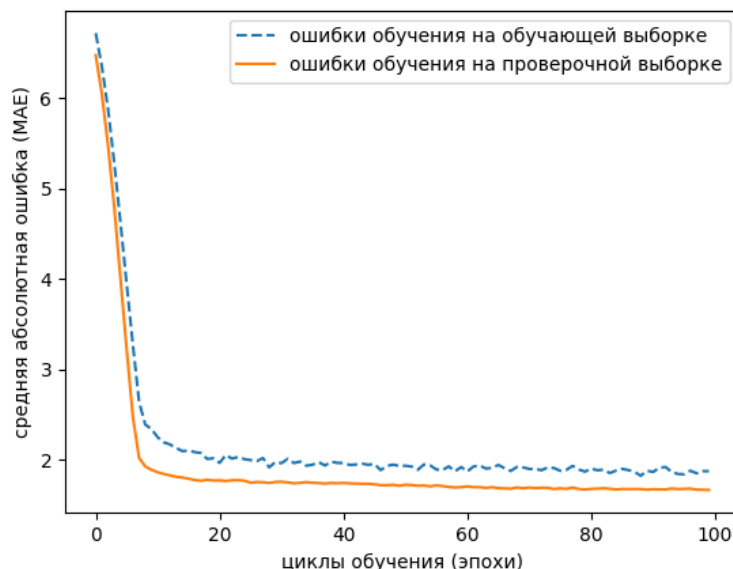


Рисунок 3 – График средней абсолютной ошибки от количества циклов для обучающей и проверочной выборки

Результаты обучения нейронной сети с вариантом рецептуры плавленого сыра «Сырте», по которому была разработана техническая документация и проведена промышленная апробация, представлены на рис. 4.

```

Результат обучения нейросети:
Достоверность - 63.58576409596202%
Обучение завершено. Пожалуйста, введите входные параметры рецепта. Если параметр для рецепта не задан, введите 0.
Введите значение показателя - массовая доля жира%
0
Введите значение показателя - содержание белков %
0
Введите значение показателя - массовая доля влаги %
52
Введите значение показателя - массовая доля жира в сухом веществе %
55
Введите значение показателя - содержание органических кислот %
6.5
Введите значение показателя - массовая доля сахара %
0
Введите значение показателя - массовая доля соли %
0.2
Введите значение показателя - массовая доля сухого вещества %
0
[0.0, 0.0, 52.0, 55.0, 6.5, 0.0, 0.2, 0.0]
[[ 0.  0.  52.  55.  6.5  0.  0.2  0. ]]
1/1 [=====] - 0s 12ms/step
[[7.704522]]
Ожидаемое значение - [7.704522]
    
```

Рисунок 4 – Результаты обучения нейронной сети для рецептуры нового плавленого сыра

С достоверностью 63,6 % интегральный показатель качества рецептуры нового сыра, спроектированной с помощью информационно-советующей системы, будет составлять 7,7 условных единиц. Это прогнозируемое значение подтвердилось при практической выработке сыра по спроектированной рецептуре.

Результаты исследований использованы при реализации государственного задания № 075–00316–20–01, мнемокод 0611–2020–013, номер темы FZMM-2020–0013.

Литература

1. Цифровая нутрициология: применение информационных технологий при разработке и совершенствовании пищевых продуктов: монография / В.А. Тутельян, О.Н. Мусина, М.Г. Балыхин, М.П. Щетинин, Д.Б. Никитюк. – Москва; Барнаул: АЗБУКА, 2020. – 378 с.
2. Мусина, О.Н. Комбинированные продукты в отечественном сыроделии: монография. – Барнаул: Изд-во Алтайского гос. ун-та, 2007. – 165 с.
3. Musina O., Putnik P., Koubaa M., Barba F.J., Greiner R., Roohinejad S., Granato D. Application of modern computer algebra systems in food formulations and development: a case study // Trends in Food Science & Technology. – 2017– № 64. – С. 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.011>
4. Портнов, Н.М. Методология компьютерного проектирования персонализированных рационов питания: дисс... канд. техн. наук 05.18.15 / Н.М. Портнов. – Москва, 2020. – 255 с.
5. Marconi S., Durazzo A., Camilli E., Lisciani S., Gabrielli P., Aguzzi A., Gambelli L., Lucarini M., Marletta L. Food composition databases: considerations about complex food matrices // Foods. – 2018. – Vol. 7. – Issue 1. – P. 2. <https://doi.org/10.3390/foods7010002>
6. Бессонов В.В., Богачук М.Н., Боков Д.О., Макаренко М.А., Малинкин А.Д., Сокурено М.С., Зотов В.А., Шевякова Л.В. Базы данных химического состава пищевых продуктов в эпоху цифровой нутрициологии // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89. – № 4. – С. 211–219. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10058>
7. Мусина О.Н., Нагорных Е.М., Мелёшкина Л.Е., Аверьянова Е.В., Школьников М.Н., Орлова Т.Н., Потапова В.А. Химический состав продовольственного сырья и пищевых продуктов // Свидетельство о государственной регистрации № 2021622647; заявка 2021622592; заявл. 17.11.2021; опублик. 24.11.2021
8. Мусина О.Н., Нагорных Е.М. Программа для управления справочником «Химический состав продовольственного сырья и пищевых продуктов» // Свидетельство о государственной регистрации № 2022617444; заявка 2022612821; заявл. 28.02.2022; опублик. 21.04.2022
9. Мусина О.Н., Нагорных Е.М. Нормы физиологических потребностей в энергии, пищевых и биологически активных веществах для различных групп населения // Свидетельство о государственной регистрации № 2022622121; заявка 2022621449; заявл. 21.06.2022; опублик. 23.08.2022
10. Мусина О.Н., Нагорных Е.М. Программа для управления справочником «Нормы физиологических потребностей в энергии, пищевых и биологически активных веществах для различных групп населения» // Свидетельство о государственной регистрации № 2022663300; заявка 2022662542; заявл. 05.07.2022; опублик. 13.07.2022
11. Мусина О.Н., Нагорных Е.М. Плавленные сыры: отечественные патентные документы // Свидетельство о государственной регистрации № 2023620805; заявка 2023620499; заявл. 22.02.2023; опублик. 06.03.2023
12. Мусина О.Н., Нагорных Е.М. Программа для управления электронным справочником «Плавленные сыры: отечественные патентные документы» // Свидетельство о государственной регистрации № 2023614758РФ; заявка 2023613398; заявл. 22.02.2023; опублик. 06.03.2023
13. Мусина О.Н., Нагорных Е.М. Рецептуры плавленных сыров // Свидетельство о государственной регистрации № 2023620806; заявка 2023620498; заявл. 22.02.2023; опублик. 06.03.2023
14. Мусина О.Н., Нагорных Е.М. Программа для управления электронным справочником рецептур плавленных сыров // Свидетельство о государственной регистрации № 2023618007; заявка 2023616639; заявл. 04.04.2023; опублик. 18.04.2023

ФЕРМЕНТАЦИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР СТАРТЕРНЫМИ И ПРОБИОТИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ**К.В. Моисеенко¹, Е.О. Ландесман¹, И.В. Рожкова², Т.В. Федорова¹***Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии”
Российской академии наук, Москва, 119071, Россия**Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, 115093, Россия*

В настоящее время продукты питания, основанные на ферментации различных зерновых культур, являются одним из перспективных и востребованных направлений пищевой биотехнологии. Хотя зерновые продукты являются хорошими источниками углеводов, белков, минералов, клетчатки и витаминов, в целом они уступают продуктам животного происхождения (в том числе и молочными продуктами) по содержанию аминокислот и белков. Ферментация зерновых культур может не только способствовать их обогащению аминокислотами и белками, но и придавать им так называемые «функциональные свойства», то есть дополнительную к традиционной пищевой ценности способность положительно влиять на физиологию человека при систематическом употреблении. В качестве растительных матриц продукты из ферментированных злаков подходят для людей с непереносимостью лактозы, аллергией на казеин и людей, придерживающихся диеты с низким содержанием жиров. Также ферментированные зерновые продукты рассматриваются как новые средства доставки пробиотических микроорганизмов, адекватное количество которых в кишечнике способствует укреплению иммунитета, снижению пищевой аллергии и подавлению развития патогенной микрофлоры.

В настоящей работе была проведена ферментация зерновых культур риса и овса 15 стартерными и пробиотическими штаммами молочнокислых бактерий (МКБ): двумя штаммами *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (Lb100 и Lb200), пятью штаммами *Lactobacillus helveticus* (2bb, 5bb, 14bb, АКВ и НК1), тремя штаммами *Lacticaseibacillus paracasei* (KF1, МА2 и МА3), двумя штаммами *Streptococcus thermophilus* (159 и 16t) и четырьмя штаммами *Lactococcus lactis* (AM1, МА1, dIA). Для ферментации брали как 3 % раствор рисовой и овсяной муки, так и растительное молоко приготовленное на основе рисового и овсяного компонентов. Параметрами, измеряемыми в полученных продуктах ферментации, являлись: концентрация жизнеспособных клеток МКБ, pH, степень протеолиза и антиоксидантная активность. Также для полученных продуктов проводилась органолептическая оценка и масс-спектрометрический анализ летучих органических соединений (ЛОС).

Было установлено, что все исследованные штаммы способны ферментировать как муку, так и растительное молоко обеих зерновых культур. В процессе ферментации концентрация жизнеспособных клеток МКБ увеличивалась на 1–2 порядка, достигая максимального значения в 10^6 – 10^7 КОЕ/мл за 12–24 ч. Для всех ферментаций максимальное снижение pH до 4,0–4,5 наблюдалось через 24 ч. Как для рисовой, так и для овсяной основ наибольшей антиоксидантной активностью обладали продукты, ферментированные штаммами *L. helveticus* – в продуктах на основе риса антиоксидантная активность увеличивалась с 55–70 $\mu\text{M(TE)}$ до 150–200 $\mu\text{M(TE)}$, а в продуктах на основе овса – с 215–315 $\mu\text{M(TE)}$ до 400–500 $\mu\text{M(TE)}$. Стоит отметить, что наибольшей степенью протеолиза также наблюдалась для продуктов, ферментированные штаммами *L. Helveticus* – в продуктах на основе риса степень протеолиза увеличивалась с $\sim 0,7$ mM(L-Leu) до $\sim 1,4$ mM(L-Leu), а в продуктах на основе овса – с $\sim 0,9$ mM(L-Leu) до $\sim 1,6$ mM(L-Leu). Наивысшую органолептическую оценку получили продукты, ферментированные штаммами *S. thermophilus* и *L. lactis*, обладавшие характерным свежим фруктовым ароматом, что объяснялось наличием в их профиле ЛОС алифатических ациклических кетонов.

Сопоставление полученных данных с особенностями геномов каждого штамма позволит в дальнейшем выявить генетические детерминанты для направленного отбора наиболее перспективных с точки зрения ферментации зерновых штаммов ЛАБ и композиций на их основе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, грант 22–16–00108.

УДК 676.168

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В АКТИВНОЙ УПАКОВКЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

*А.В. Борисова**ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет», Самара, Россия*

Активная упаковка пищевых продуктов – новое направление в развитии пищевой и упаковочной промышленности. Способность такой упаковки влиять на срок годности пищевого продукта, устраняя негативные лимитирующие факторы, является востребованной как для производителей, так и потребителей. В основе механизма действия активной упаковки лежат различные физико-химические процессы, одним из которых является введение антимикробного или антиокислительного агента в состав пищевой упаковки и постепенное высвобождение его в окружающую среду. При этом высвобождении угнетается жизнедеятельность патогенных микроорганизмов, замедляются процессы поверхностного окисления жировых продуктов, предотвращается появление плесени на поверхности продуктов. В качестве антимикробных агентов чаще всего применяют наночастицы металлов, в частности серебра [1], химические соединения, например, гидроксид магния, сорбиновую кислоту, азосоединения [2], фенольные вещества в чистом виде (карвакрол), и в виде экстрактов растений.

В последние годы наряду с появлением активной упаковки большой интерес и актуальность имеет подбор упаковочного материала, обладающего свойствами биологического разложения, прочности, функциональности [1–5]. В качестве полимерных материалов часто используют полилактид, полибутиленадипаттерфталат, поливиниловый спирт, хитозан, а также водорастворимые полисахариды – альгинат натрия, желатин, агар, крахмал и проч. В основном первую группу разлагаемых полимеров применяют для создания тонких пленок, выдерживающих вакуумирование, твердых лотков и другой тары, водорастворимые полимеры используют для создания съедобных покрытий. И в первом, и во втором случаях непосредственное введение антимикробных агентов в полимерную матрицу трудноосуществимо. В случае гидрофобных полимеров активный агент прочно связывается внутри полимерной матрицы и его миграция в окружающую среду возможна только с внешних слоев, что существенно снижает эффективность композиции. Для водорастворимых полисахаридных матриц основной проблемой является их полное растворение в воде, что делает невозможным длительное хранение таких пленок и соответственно, активный компонент пленки может не успеть проявить свои свойства, в то время как полимерная матрица растворится под воздействием влажного воздуха или в случае кратковременного хранения продукта. Поэтому многие исследователи склоняются в сторону создания композитных материалов для активной упаковки пищевых продуктов. И одним из компонентов такой упаковки является бактериальная целлюлоза.

Бактериальная целлюлоза (БЦ) представляет собой полимер с размерами волокон 12–24 нм и обладает уникальными свойствами. Благодаря особенностям культивирования волокна БЦ имеют трехмерную структуру, закрученную в спирали, что отличает БЦ от других видов целлюлоз. Высокая степень кристалличности и полимеризации одновременно придают БЦ свойства сверхвысокой прочности и гибкости [6–8]. Такие свойства, полная пищевая безопасность делают БЦ крайне привлекательной для разработки пищевой упаковки.

В лаборатории технологии биоупаковки Самарского государственного технического университета проводятся разработки составов упаковочных материалов из полилактида и альгината натрия, обладающих антиоксидантными и антимикробными свойствами, с бактериальной целлюлозой в качестве матрицы для антимикробного агента. В качестве антиоксидантных и антимикробных агентов использованы экстракты лекарственных растений: подорожника, пижмы, ромашки; экстракт шелухи чеснока, кожуры граната. Экстракт добавляли к БЦ и выдерживали при температуре 25 ± 3 °C в течение 24 ч. Затем БЦ измельчали, высушивали в случае использования полилактида и добавляли в виде гидрогеля в случае использования водорастворимых полисахаридов.

На рис. 1 показан график ингибирования свободного радикала 2,2' – дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH) активными компонентами пленки.

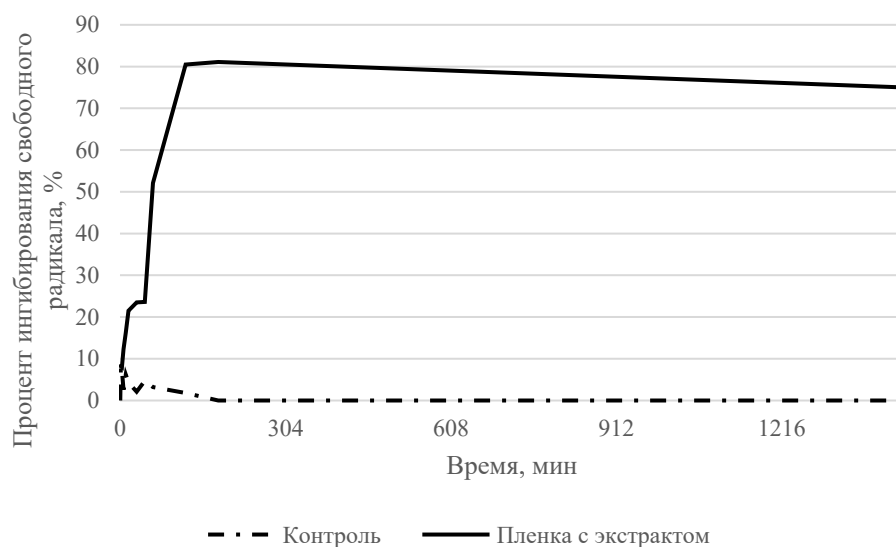


Рис. 1. Процент ингибирования свободного радикала DPPH

Как видно из графика на рис. 1, пленка из альгината натрия, содержащая в своем составе бактериальную целлюлозу и экстракт граната выделяет активное действующее вещество в раствор непрерывно, в течение суток в то время, как пленка только с бактериальной целлюлозой без экстракта, не проявляет активности в отношении свободного радикала. Это еще раз подтверждает инертность бактериальной целлюлозы и возможность ее использования для доставки активного компонента экстрактов растений в пищевой упаковке для придания ей антимикробных и антиоксидантных свойств.

Литература

1. Sarwar M.S., Niazi M.B.K., Jahan Z., Ahmad T., Hussain A. Preparation and characterization of PVA/nanocellulose/Ag nanocomposite films for antimicrobial food packaging // *Carbohydrate Polymers*. – 2018. – V.184. – P. 453–464. DOI: 10/1016/j.carbpol.2017.12.068
2. Concilio S., Iannelli P., Sessa L., Olivieri R., Porta A., De Santis F., Pantani R., Piotto S. Biodegradable antimicrobial films based on poly(lactic acid) matrices and active azo compounds // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2015. – V. 132, № 33. DOI: 10/1002/APP.42357
3. Ounkaew A., Kasemsiri P., Kamwilaisak K., Saengprachatanarug K., Mongkolthanaruk W., Souvanh M., Pongsa U., Chindaprasit P. Polyvinyl Alcohol (PVA)/ Starch Bioactive Packaging Film Enriched with Antioxidants from Spent Coffee Ground and Citric Acid // *Journal of Polymers and the Environment*. – 2018. – V. 26, № 9. – P. 3762–3772. DOI: 10/1007/s10924-018-1254-z
4. Vishnuvarthanan M., Dharunya R., Jayashree S., Karpagam B., Sowndharya R. Environment-friendly packaging material: banana fiber/cowdung composite paperboard // *Environmental Chemistry Letters*. – 2019. – V.17, № 3. – P. 1429–1434. DOI: 10/1007/s10311-019-00879-9
5. Şen F., Kahraman M.V. Preparation and characterization of hybrid cationic hydroxyethyl cellulose/sodium alginate polyelectrolyte antimicrobial films // *Polymers Advanced Technologies*. – 2018. – V.27, № 7. – P. 1895–1901. DOI: 10/1002/pat.4298
6. Skiba E.A., Gladysheva E.K., Budaeva V.V., Aleshina L.A., Sakovich G.V. Yield and quality of bacterial cellulose from agricultural waste // *Cellulose*. – 2022. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04372-x>.
7. Aleshina L.A., Gladysheva E.K., Budaeva V.V., Mironova G.F., Skiba E.A., Sakovich G.V. X-ray diffraction data on the bacterial nanocellulose synthesized by *Komagataibacter xylinus* B-12429 and B-12431 microbial producers in miscanthus-and oat hull-derived enzymatic hydrolyzates // *Crystallography Reports*. 2022. – V. 67. – № 3. – P. 391–397. <https://doi.org/10.1134/S1063774522030026>
8. Shavyrkina N.A., Budaeva V.V., Skiba E.A., Mironova G.F., Bychin N.V., Gismatulina Y.A., Kashcheyeva E.I., Sitnikova A.E., Shilov A.I., Kuznetsov P.S., Sakovich G.V. Scale-up of biosynthesis process of bacterial nanocellulose // *Polymers*. – 2021. V.13 (12). – P. 1920; <https://doi.org/10.3390/polym13121920>

УДК 614.876

**ПРИМЕНЕНИЕ ПУЧКОВ УСКОРЕННЫХ ЭЛЕКТРОНОВ ДЛЯ ОБРАБОТКИ
БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ****С.А. Золотов^{1,2}, У.А. Близнюк^{1,2}, А.П. Черняев^{1,2}, Ф.Р. Студеникин^{1,2}, П.Ю. Борщевская^{1,2},
А.Д. Никитченко¹, Н.Д. Кречетов¹, С.А. Соколов¹, И.А. Родин^{1,3}**

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Научно-исследовательский Институт
Ядерной Физики имени Д.В. Скобельцына, Москва, Россия

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Радиационная обработка является удобной и универсальной технологией для обработки различных биологических объектов и материалов. Возможности ее применения весьма разнообразны – от ингибирования прорастания корнеплодов и полного подавления патогенной микрофлоры в пищевой продукции до радиационной модификации полимеров и повышения износостойкости металлов, очистки сточных вод и окрашивания минералов [1–7]. При этом технология является экологически чистой, и её безопасность подтверждена многолетними международными исследованиями [8–13].

Метод радиационной обработки биологических объектов базируется на ионизации и возбуждении атомов путем передачи веществу энергии излучения. В результате облучения возникают продукты радиолиза, которые далее инициируют химические реакции, образование свободных радикалов, реакции радиолиза воды [14, 15]. Образующиеся химически активные соединения оказывают воздействие на бактериальные клетки, вызывая цепные реакции окисления липидов мембран и разрывы нитей ДНК в ядрах, подавляя тем самым размножение и рост патогенных микроорганизмов, а при определенных условиях приводят к их непосредственной гибели.

Для проведения радиационной обработки разрешено использовать γ – излучение, испускаемое радиоизотопами⁶⁰ Co и¹³⁷ Cs, тормозное излучение с энергией до 5 МэВ (до 7.5 МэВ в США) и пучки ускоренных электронов с энергией до 10 МэВ [16, 17]. Такой выбор верхнего энергетического предела обусловлен тем, что в данном диапазоне энергий не происходит ядерных реакций с наработкой нестабильных изотопов, т. е. в процессе обработки не возникает наведенной радиоактивности.

В большинстве центров радиационной обработки сегодня используются ускорители электронов [14]. Это обусловлено тем, что в сравнении с гамма – установками использование ускорителя дает возможность варьирования тока пучка и энергии электронов [18]. Изменяя ток пучка, можно изменять интенсивность излучения и, соответственно, мощность дозы, поглощаемой обрабатываемым объектом. Изменение энергии электронов позволяет контролировать глубину проникновения электронов в объект в зависимости от цели облучения.

Поглощенная доза – это один из ключевых факторов, определяющих воздействие ускоренных электронов на вещество. Величина дозы облучения представляет собой отношение энергии, поглощенной объемом, к его массе. При этом диапазон доз, применяемый в радиационной обработке электронами, очень широк. Так, например, при модификации полимеров используются дозы от 1 кГр до 400 кГр [19]. Для дезинсекции зерна, круп и специй требуются дозы до 0.2 кГр [20]. Для стерилизации древесины, деструкции целлюлозы и обработки старых архивов используются дозы до 10 кГр [21]. Стерилизация пищевых продуктов, медицинских изделий и материалов, используемых в трансплантологии, происходит при дозах до 35 кГр [22]. При облучении пищевых продуктов доза варьируется от 0.2 кГр для ингибирования проростков дозой до 50 кГр для стерилизации продуктов [23]. Обработка биоотходов для инактивации широкого спектра вирусов и бактерий проводится в дозах до 1 МГр, что является максимальной дозой, используемой для контроля загрязнения органических объектов [24].

Вторым важным фактором, определяющим воздействие ускоренных электронов на вещество, является однородность обработки, определяемая как отношение минимального значения поглощенной дозы $D_{\min}$ к максимальному значению поглощенной дозы $D_{\max}$ в объеме объекта: $K = D_{\min} / D_{\max}$ [1]. Из-за характера глубинного распределения дозы по всему облучаемому объекту, в подавляющем большинстве случаев неизбежна неравномерность облучения, т. е. $K < 1$. Неравномерность распределения поглощенной дозы по объему облучаемого объекта влечет за собой неравномерность

эффекта облучения: переоблучение может вызвать разрушение материала или нежелательные изменения его физико-химических свойств, а недооблучение мешает достичь желаемого эффекта [25]. Поэтому распределение поглощенной дозы по облучаемому объекту должно строго контролироваться. Современные дозиметрические методы определения интегральной дозы, поглощенной объектом, и его дозового распределения при промышленном облучении являются трудоемкими и дорогостоящими [26]. Дозиметрия требует регулярного повторения и калибровки в связи с возможными изменениями спектра электронного пучка в процессе работы промышленного ускорителя [27].

Альтернативой для получения информации о дозовом распределении по глубине биологических объектов для планирования радиационной обработки выступает применение компьютерного моделирования [28]. Распределение дозы в различных объектах может быть смоделировано с помощью транспортных кодов, таких как EGSnrc [29], PENELOPE [30], MCNPx [31], GEANT4 [32]. При этом если коды EGSnrc и PENELOPE ограничены в своем применении объектами простой геометрии, то транспортные коды MCNPX и GEANT4 более широко используются в промышленности, так как являются более комплексными инструментами для моделирования более широкого спектра физических процессов, представляющих собой взаимодействие электронов, фотонов, протонов и нейтронов. Код MCNPX используется в ядерной медицине, радиационной безопасности, разработке ускорителей, моделировании промышленного облучения биологических объектов и материалов. GEANT4 на сегодняшний день является наиболее полным набором инструментов для моделирования прохождения частиц через вещество. В отличие от других кодов, GEANT4 моделирует любую геометрию объектов и источника излучения с любым энергетическим спектром, а также отслеживает физические процессы, выбранные для конкретного метода облучения и объектов, что делает GEANT4 наиболее гибким транспортным кодом с широкой областью применения.

Несмотря на то, что для моделирования взаимодействия ионизирующих излучений с веществом получили распространение транспортные коды, их использование для планирования радиационной обработки биологических объектов в промышленности имеет некоторые ограничения. Так, например, для работы с транспортным кодом пользователь должен обладать достаточно высокими навыками и компетенциями не только в области ядерной физики, но и в области программирования. Кроме того, для получения точных результатов и набора удовлетворительной статистики событий потребуются компьютерное моделирование, которое может занимать от нескольких часов до нескольких дней в зависимости от расчетной мощности используемого компьютера.

Представляется интересным разработка программы, позволяющей на основе базы данных, полученной с использованием предварительно выполненного моделирования Geant4, получать за несколько секунд распределение поглощенной дозы по глубине в объекте с заданными размерами и плотностью. Такая программа позволит существенно сократить время и сложность планирования радиационной обработки.

Примером такой программы может быть разработанный специалистами НИИ Ядерной Физики имени Д.В. Скобельцына МГУ имени М.В. Ломоносова софт DosePreview [33, 34]. DosePreview позволяет получать распределение поглощенной дозы по глубине, создаваемые при одностороннем облучении электронами с энергией от 100 кэВ до 20 МэВ в водной, алюминиевой и полимерной средах. Также DosePreview позволяет получать распределение поглощенной дозы по глубине при облучении не только пучками моноэнергетических электронов, но и пучками с заданным спектром энергии. Сравнение результатов, полученных с помощью DosePreview, с результатами, полученными с привлечением инструментария Geant4, показало их отклонение друг от друга не более 3 % во всем диапазоне рассматриваемых энергий, толщин и материалов [34].

Необходимым условием успешного облучения электронными пучками является полная информация о пространственном распределении поглощенной дозы в облучаемом объекте, которое определяется как свойствами облучаемого объекта (т.е. геометрией, элементным составом, плотностью), так и параметрами источника, в первую очередь энергетическим спектром пучка [35]. Современные подходы к определению энергетических спектров ускорителей основаны на прямом измерении энергии электронов с помощью специальной аппаратуры [36] и на косвенных методах, основанных на реконструкции спектров по экспериментально измеренным данным [37].

В рамках промышленного комплекса первый путь является весьма затруднительным, поэтому применяют второй. В исследовании [38] авторы предлагают алгоритм, позволяющий рассчитать распределение поглощенной дозы в однородном материале при его облучении пучком ускоренных электронов, если известно распределения поглощенной дозы, создаваемые этим же пучком в другом материале. Опорные данные рассчитываются с помощью компьютерного моделирования и затем используются для решения обратной задачи с применением регуляризирующих операторов. Интересной отметить, что алгоритм позволяет уточнять экспериментально измеренные глубинные дозовые распределения. Так, проверка алгоритма на данных с искусственно внесенной 30 % – погрешностью показала восстановление изначального дозового распределения с погрешностью не более 5 % на значимых глубинах.

Заключение

Обработка биологических объектов пучками ускоренных электронов одной из наиболее широко изученных технологий XX века. Анализ различных областей применения электронных пучков показывает, что с каждым годом технология распространяется все больше. Принимаются новые стандарты [39], вводятся поправки в существующие законы [40]. Будущее пищевого облучения будет зависеть от информированности общественности и лучшего понимания той роли, которую этот процесс может сыграть в борьбе с патогенами, передающимися с пищей. Принятие облучения потребителями – это вопрос просвещения и правильной коммуникации, снижающей несправедливое представление об облучении продуктов питания как о ядерной технологии [41]. Маркетинговые исследования показали, что все большее число потребителей готовы покупать облученные продукты, если они должным образом проинформированы о процессе и его влиянии на продукты питания [42]. Успешность внедрения технологии в существующие производственные процессы напрямую зависит от кооперации промышленности и научных коллективов. Имеющийся фундамент в виде многолетних исследований обещает безболезненное внедрение радиационной обработки в индустрию и повышение эффективности пищевой отрасли.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ
в рамках научного проекта № 22-63-00075.*

Литература

1. Trends in Radiation Sterilization of Health Care Products. Vienna, International Atomic Energy Agency; July 2008. ISBN 978–92–0–111007–7
2. Abou Elmaaty T, Okubayashi S, Elsisy H, Abouelenin S. Electron beam irradiation treatment of textiles materials: a review. *Journal of Polymer Research*. 2022; 29:117. DOI: 10.1007/s10965–022–02952–4
3. Manaila E, Craciun G, Ighigeanu D, Lungu IB, Dumitru Grivei MD, Stelescu MD. Degradation by Electron Beam Irradiation of Some Composites Based on Natural Rubber Reinforced with Mineral and Organic Fillers. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(13):6925. DOI: 10.3390/ijms23136925
4. Working Material Produced by the International Atomic Energy Agency. In: Radiation Effects on Polymer Materials Commonly Used in Medical Devices. Report of the 1st RCM for CRP F2303; 15–19 November 2021; Vienna, Austria; 2021. 170 p.
5. Chulikova N, Malyuga A, Borshchegovskaya P, Zubritskaya Y, Ipatova V, Chernyaev A et al. Electron Beam Irradiation to Control Rhizoctonia solani in Potato. *Agriculture*. 2023; 13:1221. DOI: 10.3390/agriculture13061221
6. Bliznyuk U, Avdyukhina V, Borshchegovskaya P, Bolotnik T, Ipatova V, Nikitina Z et al. Effect of electron and X-ray irradiation on microbiological and chemical parameters of chilled turkey. *Scientific Reports*. 2022; 12:750. DOI: 10.1038/s41598–021–04733–3
7. Hossain K, Maruthi YA, Das NL, Rawat KP, Sarma KSS. Irradiation of wastewater with electron beam is a key to sustainable smart/green cities: a review. *Applied Water Science*. 2018; 8(1). DOI: 10.1007/s13201–018–0645–6
8. Вторичное излучение ускорителей электронов / В.П. Ковалев М.: Атомиздат, 1979
9. Radiological safety aspects of the operatin of electron linear accelerators / Swanson, William P // IAEA Technical reports series № 188 – 1979
10. The development of X-ray machines for food irradiation (proceedings of a consultants' meeting) Vienna IAEA., Austria 16–18 October 1995.
11. Potential Induced Radioactivity in Materials Processed with X-ray Energy Above 5 MeV Hervé Michel, Thomas Kroc, Brian J. McEvoy, Deepak Patil, Pierre Reppert, and Mark A. Smith Industrial Sterilization: Challenging the Status Quo, Driving for Continuous Improvement Spring 2021
12. Наведенная активность вольфрамовой мишени на ускорителе электронов энергией 10 МэВ / Тетерев Ю.Г., Белов А.Г. // Атомная энергия, Т. 91, вып. 3, сентябрь 2001
13. Natural and induced radioactivity in food. IAEA-TECDOC-1287. Vienna: IAEA. 2002. 136 p. 19.

14. Черняев А.П. Радиационные технологии. Наука. Народное хозяйство. Медицина / Черняев А.П. // Москва: Издательство Московского университета, 2019. – 231 с.
15. Дозиметрический контроль при проведении радиационной обработки пищевых продуктов / Павлов А.Н., Санжарова Н.И., Черняев А.П. и др. // в журнале Радиационная гигиена, том 13, № 4, с. 40–50, 2020. <https://doi.org/10.21514/1998-426X-2020-13-4-40-50>
16. ISO 11137-3-2006 Sterilization of health care products Radiation Part 3: Guidance on dosimetric aspects. Стерилизация медицинской продукции. Облучение. Часть 3. Руководство по вопросам дозиметрии.
17. ISO 14470-2011 Food irradiation – Requirements for the development, validation and routine control of the process of irradiation using ionizing radiation for the treatment of food. Радиационная обработка пищевых продуктов. Требования к разработке, валидации и повседневному контролю процесса облучения пищевых продуктов ионизирующим излучением.
18. Shvedunov VI et al. Electron accelerators design and construction at Lomonosov Moscow State University. Radiation Physics and Chemistry. 2019; 159:95–100. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2019.02.044
19. Sabharwal S. Electron beam irradiation applications. In: Proceedings of PAC2013; Pasadena, CA USA; 2013. p. 745–748
20. Физико-механические меры борьбы со свредителями хлебных запасов [Электронный ресурс] // www.rsnso.ru: управление Россельхознадзора по Свердловской области URL: <http://www.rsnso.ru/documents/publications/?n=310> (дата обращения 31.07.2023)
21. Технологии на базе электронных пучков [Электронный ресурс] // inp.nsk.su: Институт ядерной физики имени Г.И. Будкера СО РАН URL: http://inp.nsk.su/~tararysh/accel/el_pu_r.html#ET16 (дата обращения 31.07.2023)
22. Working Material Produced by the International Atomic Energy Agency. In: Radiation Effects on Polymer Materials Commonly Used in Medical Devices. Report of the 1st RCM for CRP F2303; 15–19 November 2021; Vienna, Austria; 2021. 170 p.
23. Vega-Hernández MÁ, Cano-Díaz GS, Vivaldo-Lima E, Rosas-Aburto A, Hernández-Luna MG, Martínez A et al. A Review on the Synthesis, Characterization, and Modeling of Polymer Grafting. Processes. 2021; 9(2):375. DOI: 10.3390/pr9020375
24. Alimov S. Practical applications of electron accelerators. Preprint SINP MSU, Moscow. 2011–13/877. 41 p.
25. Development of electron beam and x ray applications for food irradiation. Vienna : International Atomic Energy Agency, 2022. 372 p. (TECDOC series, ISSN 1011-4289; no. 2008)
26. Helt-Hansen J, Miller A, Sharpe P, Laurell B, Weiss D, Pageau G. Dμ – A new concept in industrial low-energy electron dosimetry. Radiation Physics and Chemistry. 2010; 79(1):66–74. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2009.09.002
27. Studenikin FR, Bliznyuk UA, Chernyaev AP, Krusanov GA, Nikitchenko AD, Zolotov SA, Ipatova VS. Electron beam modification for improving dose uniformity in irradiated objects. The European Physical Journal Special Topics. 2023. DOI: 10.1140/epjs/s11734-023-00886-6
28. IAEA Radiation Technology Series No. 1. Use Of Mathematical Modelling In Electron Beam Processing: A Guidebook. International Atomic Energy Agency Vienna, 2010.
29. Kawrakow I. The EGSnrc Code System: Monte Carlo Simulation of Electron and Photon Transport. Manual – Guides. NRC: Canada, 2001–2021. 2023. 323 p.
30. Nuclear Energy Agency. PENELOPE 2018: A code system for Monte Carlo simulation of electron and photon transport. In: Workshop Proceedings; 28 January – 1 February 2019; Barcelona, Spain; 2019. 420 p. DOI: 10.1787/32da5043-en
31. The MCNP® Code [Internet]. 2023. <https://mcnp.lanl.gov> [Accessed: 2023-07-23]
32. Allison J, Amako K, Apostolakis J, Arce P, Asai M, Aso T et al. Recent developments in Geant 4. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. 2016; 835:186–225. DOI: 10.1016/j.nima.2016.06.125
33. DosePreview [Электронный ресурс] // <https://industrial-rt.ru>: ООО «Промышленные радиационные технологии» URL: <https://industrial-rt.ru/dosepreview> (дата обращения 31.07.2023)
34. Студеникин Ф.Р., Черняев А.П., Близняк У.А., Золотов С.А., Борщевская П.Ю., Антипина Н.А., Николаева А.А., Кречетов Н.Д., Соколов С.А. Расчет распределения поглощенной дозы по глубине в однородных объектах при радиационной обработке ускоренными электронами // Сборник тезисов докладов под редакцией профессора В.В. Белокурова, издательство Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова (Москва), 2023, с. 170–172
35. Li G, Wu A, Lin H, Wu Y. Electron spectrum reconstruction as nonlinear programming model using micro-adjusting algorithm. In: Peng Y, Weng X. (eds) 7th Asian-Pacific Conference on Medical and Biological Engineering. IFMBE Proceedings; Berlin, Heidelberg: Springer; 2008; 19. DOI: 10.1007/978-3-540-79039-6_112
36. Kozirev AV, Kozhevnikov VY, Vorobyov MS, Baksht EK, Burachenko AG, Koval NN, Tarasenko VF. Reconstruction of electron beam energy spectra for vacuum and gas diodes. Laser and Particle Beams. 2015; 33(02):183–192. DOI: 10.1017/s0263034615000324
37. Torres-Díaz J, Grad GB, Bonzi EV. Measurement of linear accelerator spectra, reconstructed from percentage depth dose curves by neural networks. Physica Medica: European Journal of Medical Physics. 2022; 96:81–89. DOI: 10.1016/j.ejmp.2022.02.019
38. Bliznyuk UA, Borshchegovskaya PYu, Zolotov SA, Ipatova VS, Krusanov GA, Nikitchenko AD et al. Reconstruction of Depth Dose Distributions in Materials Created by Electron Beam. Physics of Particles and Nuclei. 2023; 54(4): 575–580. DOI: 10.1134/S1063779623040081
39. ГОСТ 33339-2015. МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ. РАДИАЦИОННАЯ ОБРАБОТКА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ. Основные технические требования. Radiation processing of food products. General specifications. М., 2017, 7 с.
40. Федеральный закон от 18.03.2023 № 67-ФЗ "О внесении изменений в статью 16 Федерального закона "О радиационной безопасности населения" и Федеральный закон "О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами"
41. Teisi, M.F., Fein, S.B., & Levy, A.S. (2009). Information effects on consumer attitudes toward three food technologies: organic production, biotechnology and irradiation. Food Quality and Preference, 20, 586–596.
42. Eustice, R.E., & Bruhn, C.M. (2006). Consumer acceptance and marketing of irradiated foods. In C.H. Sommers, & X. Fan (Eds.), Food irradiation research and technology (pp. 63e83). Oxford: Blackwell Publ., Ltd.

УДК 614.876

ИССЛЕДОВАНИЕ ДОЗОВЫХ ЗАВИСИМОСТЕЙ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ОКИСЛЕНИЯ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПОСЛЕ РАДИАЦИОННОЙ ОБРАБОТКИ

О.Ю. Хмелевский¹, У.А. Близнюк^{1,2}, П.Ю. Борищевская^{1,2}, В.С. Ипатов², А.Д. Никитченко¹,
Т.А. Болотник¹, С.А. Золотов^{1,2}, А.П. Черняев^{1,2}, Д.С. Юров², И.А. Родин^{1,3}

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Научно-исследовательский Институт Ядерной Физики имени Д.В. Скобельцына, Москва, Россия

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Радиационная обработка является безопасным и эффективным методом сохранения качества и продления сроков хранения широкого спектра пищевых продуктов [1]. Для каждой категории продуктов питания существует эффективный диапазон доз радиационной обработки, который снижает микробиологические показатели продукции и не приводит к изменению физических и химических свойств продукта [2]. Будучи сильно подверженными бактериальному загрязнению, охлажденные мясные и рыбные продукты, а также корнеплоды требуют особого подхода к выбору диапазона доз обработки, поскольку степень изменения физико-химических показателей продуктов после воздействия излучения зависит от состава белков, жиров и углеводов, pH тканей, состава и концентрации микроорганизмов, температуры хранения, концентрации кислорода, типа упаковки, наличия оксидантов и др. [3].

Цель работы – оценка степени окисления мясной, рыбной и овощной продукции после воздействия ускоренных электронов с помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии.

В качестве объектов исследования были выбраны продукты мясного (говядина и индейка) и рыбного происхождения (семга), хранившиеся в холодильной камере при температуре 2 °С в течение не более двух дней с момента забоя и картофель, собранный за 2 месяца до обработки и хранившийся при температуре 18 °С.

Облучение образцов проводилось на линейном ускорителе электронов непрерывного действия УЭЛР-1–25-Т-001 с энергией 1 МэВ (производитель НИИЯФ МГУ совместно с АО НПП «ТОРИЙ», Россия) в диапазоне доз от 0,1 кГр до 10 кГр. Мясные и рыбные продукты до и после облучения хранились при температуре 2 °С, картофель при 20 °С.

Для моделирования облучения пучком ускоренных электронов с энергией 1 МэВ и определения глубинного дозового распределения по толщине образцов продукции использовался программный код GEANT4. Было установлено, что наибольшая равномерность облучения 70 % сохраняется для образцов с линейными размерами не более 2 мм. Образцы продукции представляли собой куски биологической ткани толщиной 2 мм и массой не более 2 г, которые помещались в пробирки эппендорф объемом 2 мл для последующего облучения электронами.

Для контроля дозы, поглощенной образцами во время облучения, с помощью аналого-цифрового преобразователя считывался заряд $Q_{пл}$, поглощенный дюралюминиевой пластиной площадью $S_{пл}$. Расчет поглощенной дозы проводился по формулам:

$$D = \frac{E}{m} = \frac{FE_0 h S}{\rho V H_{max}}, \quad (1)$$

$$F = \varphi_N \Delta t = \frac{I}{e S} \Delta t, \quad (2)$$

где E – энергия, поглощенная образцом, m – масса образца, F – поток электронов, φ_N – средняя плотность потока электронов, равная $8,2 \times 10^{10} \text{ л/см}^2 \times \text{с}$, E_0 – начальная энергия электронов, поглощаемая на глубине $H_{max} = 5 \text{ мм}$, $h = 2 \text{ мм}$ – толщина облучаемого образца, S – поверхностная площадь образца, ρ – плотность воды, I – средний ток пучка, равный 2 мкА, e – заряд электрона, Δt – время облучения.

В зависимости от пространственной конфигурации, взаимного расположения и взаимодействия с окружающими молекулами у различных соединений в веществе ионизирующее излучение может

приводить к разрывам связей между атомами, фрагментации молекул на другие соединения или образованию из них других видов молекул и биорадикалов. Все эти процессы приводят к структурным перестройкам и функциональным изменениям молекул. Одними из соединений, образующимися в результате воздействия ионизирующего излучения на белки, жиры и углеводы в составе облученного продукта являются летучие органические соединения (ЛОС): кетоны, альдегиды, спирты. Появление и изменение концентраций ЛОС может говорить о различных окислительных процессах и возникновении структурных изменений биологических молекул после воздействия излучения на ткани продукта.

С помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) (Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra, Япония) были получены хроматограммы, по которым идентифицировали летучие органические соединения путём сравнения экспериментальных данных с параметрами эталонных образцов соединений в библиотеке масс-спектров.

На основе анализа поведения концентраций ЛОС в образцах говядины, индейки, семги и картофеля, облученных в дозах 0,1–10 кГр и на основе модельных экспериментов, проведенных со стандартными образцами летучих органических соединений в физиологическом растворе, был предложен механизм изменения содержания ЛОС в образцах продукта после воздействия излучения, основанный на конкурирующих процессах радиационно-индуцированного распада ЛОС и накопления ЛОС за счет распада других органических молекул [4], а также предложена функция, описывающая изменение концентрации идентифицированных соединений от дозы облучения:

$$C(D) = C_{10} \cdot \exp(-k_p D) + C_{20} \times (1 - \exp(-k_{n1} D)) + C_{30} / (1 + \exp(-k_{n2} \cdot (D - D_{\text{пор}}))), \quad (3)$$

где C_{10} (мг/кг) – начальная концентрация соединения, k_p (Гр⁻¹) – параметр, характеризующий скорость распада летучего соединения после облучения; C_{20} (мг/кг) – параметр, характеризующий максимальную концентрацию летучего соединения в образце вследствие разложения «первичных» соединений; k_{n1} (Гр⁻¹) – параметр, характеризующий скорость накопления летучего соединения за счет распада «первичных» соединений после облучения; C_{30} – параметр, характеризующий максимальную концентрацию летучего соединения, которое может образовываться при распаде вторичных молекул (для распада определенного вторичного соединения необходима своя пороговая доза, ниже которой реакция незначительна или отсутствует); k_{n2} – параметр, характеризующий ширину диапазона доз активации разрушения вторичных молекул и реакции их перехода в летучие соединения; $D_{\text{пор}}$ (Гр) – пороговая доза, при которой становится возможным процесс разрушения определенных «вторичных» молекул и образование из них летучего соединения. Предложенная функция адекватно описывает экспериментальные зависимости концентраций ЛОС от дозы облучения, коэффициент корреляции для всех идентифицируемых соединений составляет от 0,96 и выше.

Было обнаружено, что дозовые зависимости для одних и тех же летучих соединений в образцах говядины, индейки, семги и картофеля различаются, что связано с различным составом, процентным содержанием высокомолекулярных соединений и различными механизмами их окисления в исследуемых продуктах после воздействия ускоренных электронов. Предложенные механизмы воздействия ионизирующего излучения на летучие органические соединения в продуктах животного и растительного происхождения, основанные на конкурирующих процессах распада соединений и их накопления за счет окисления других органических молекул, легли в основу математической модели, адекватно описывающей изменения концентрации летучих соединений от дозы облучения.

***Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта
№ 22-63-00075***

Литература

1. Global Industry Analysts. Food Irradiation Trends: Global Strategic Business Report; Global Industry Analysts: San Jose, CA, USA, 2023; 196p.
2. Bliznyuk, U.; Avdyukhina, V.; Borshchegovskaya, P.; Bolotnik, T.; Ipatova, V.; Nikitina, Z.; Nikitchenko, A.; Rodin, I.; Studenikin, F.; Chernyaev, A.; et al. Effect of electron and X-ray irradiation on microbiological and chemical parameters of chilled turkey. Sci. Rep. 2022, 12, 750.
3. Brewer, S. Irradiation effects on meat color – A review. Meat Sci. 2004, 68, 1–17.
4. Bliznyuk, U. et al. Research into Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) for Ensuring the Effect of 1 MeV-Accelerated Electrons on Volatile Organic Compounds in Turkey Meat. Separations 2022, 9, 227..

УДК 004.046

ОПЫТ ИНФОРМАЦИОННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ОСНОВНОЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ПО НАПРАВЛЕНИЮ «БИОТЕХНОЛОГИЯ»

Р.Р. Биглов, А.С. Кузнецов

МИРЭА – Российский технологический университет, г. Москва, Россия

Современные процессы проектирования основных образовательных программ высшего образования неразрывно связаны с применением деятельностного и компетентностного подходов в обучении [1, 2]. При разработке образовательных программ в соответствии с ФГОС ВО по направлениям подготовки используется большое число нормативно-регламентирующих документов. Для создания основных образовательных программ высшего образования, отвечающих современным требованиям по качеству подготовки выпускников – молодых специалистов, требуется системное понимание иерархии документов в процессах проектирования основных образовательных программ (ООП), а также структуры информационных потоков в процессах их разработки. Иерархическая структура разработки ООП в нотации от общего к частному приведена на рисунке 1.

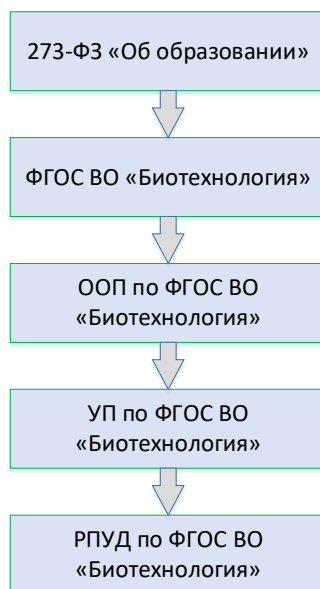


Рисунок 1. Иерархическая структура разработки ООП (от общего к частному)

Для организации системного описания процессов разработки документации по основным образовательным программам были созданы модели информационной поддержки процесса проектирования основных образовательных программ на примере ФГОС ВО «Биотехнология». Обобщенная функциональная диаграмма процесса разработки ООП по ФГОС ВО «Биотехнология» приведена на рисунке 2.



Рисунок 2. Диаграмма уровня АО – проектирование ООП

Грамотная организация управления процессами разработки основных образовательных программ невозможна без средств информационной поддержки на основе современных информационных технологий и систем. Приведенные функциональные диаграммы наглядно иллюстрируют иерархическую структуру нормативных документов, используемых при разработке основных образовательных программ высшего образования, а также отражают структуру движения информационных потоков в процессах создания, проектирования и разработке основных образовательных программ на базе современных образовательных стандартов.

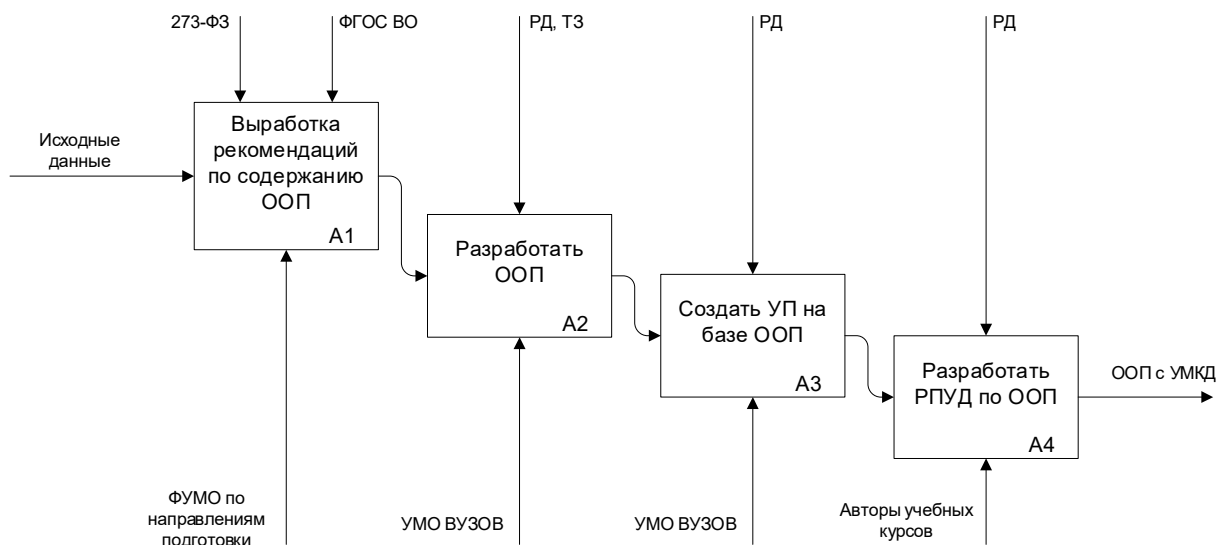


Рисунок 3. Диаграмма уровня А1 – детализация процессов проектирования ООП

Литература

1. Образовательные коммуникации как инструмент реализации компетентностной модели выпускника вуза \ Кузнецов А.С. Булатовские чтения. 2018. Т. 7. С. 99–101.
2. Образовательные коммуникации в компетентностной модели обучения Кузнецов А.С. В сборнике: НАУКА РОССИИ: ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ. Сборник научных трудов по материалам XXV международной научной конференции. Екатеринбург, 2021. С. 22–24.
3. Новая образовательная программа направления "Биотехнология" по профилю "Биоинформатика" Биглов Р.Р., Кузнецов А.С. Актуальная биотехнология. 2021. № 1. С. 343–346.
4. Современные подходы к классификации образовательных технологий Кузнецов А.С. В сборнике: Современные парадигмы образования: достижения, инновации, технический прогресс. Материалы XVII Всероссийской научно-практической конференции: в 3-х частях. 2019. С. 150–153.

УДК 615.277

КЛОНИРОВАНИЕ ФРАГМЕНТОВ КДНК ГЕНА ТИРЕОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА*А.В. Зубков, А.А. Корноухова, Н.С. Кузьмина, А.В. Сидоров, Л.Г. Бутова, О.А. Свитич**ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия***Введение**

Тиреоглобулин человека (ТГ) – это гликопротеин с молекулярной массой 660 кДа, образующийся в фолликулярных клетках щитовидной железы и секретирующийся в просвет фолликула, где непосредственно участвует в синтезе гормонов щитовидной железы: тетраiodотиронина (Т4) и трийодотиронина (Т3). Синтез гормонов происходит при непосредственном участии пероксидазы щитовидной железы – фермента, расположенного на апикальной части тиреоцита и при непосредственном контакте с тиреоглобулином, формирующей гормоны Т4 и Т3. После отщепления от тиреоглобулина гормонов ЩЖ, гликопротеин подвергается расщеплению и эндоцитозу, однако некоторое количество может поступать в кровоток. Клетки щитовидной железы – единственный источник тиреоглобулина в организме, поэтому определение ТГ в крови пациентов с дифференцированным раком щитовидной железы, после тиреоидэктомии, является прогностическим фактором развития рецидива и метастазов. Основные методы определения концентрации ТГ и антител к нему – различные варианты иммунохимических анализов [1, 2]. До последнего времени для создания диагностических тест-систем, основанных на методе ИФА, как правило, использовался нативный тиреоглобулин, источником которого является ткань щитовидной железы человека, но гетерогенность человеческого ТГ влияет на иммунореактивность белка и, соответственно, на правильность результатов диагностических тестов, основанных на взаимодействии антиген-антитело [3, 4]. Из-за крупных размеров молекулы ТГ и необходимости посттрансляционных модификаций, которые включают в себя гликозилирование и образование дисульфидных связей практически невозможно получить рекомбинантный ТГ в традиционных прокариотических системах [3].

Альтернативой может стать получение не цельного белка, а фрагментов, характерных для нативного тиреоглобулина. Один из способов получения фрагментов рекомбинантного тиреоглобулина конструирование экспрессирующей системы с помощью трансформации прокариотических клеток экспрессирующим вектором, содержащим фрагмент кДНК гена тиреоглобулина. Для крупных фрагментов ТГ, требующих посттрансляционных модификаций возможно применение эукариотических клеточных линий, трансфицированных экспрессирующим вектором.

Данная работа посвящена одной из ключевых стадий получения вектора для экспрессии фрагмента гена ТГ, включающую в себя амплификацию соответствующей нуклеотидной последовательности методом клонирования в прокариотической системе и установление соответствия клонированного участка гена последовательности, опубликованной в базах данных.

По данным онкологической службы России в 2020 году на рак щитовидной железы приходилось 8,3 % случаев онкологических заболеваний у пациентов в возрасте до 30 лет. Также с 2010 года по 2020 год наблюдался значительный прирост заболеваемости, который составил 3,54 %. Смертность в 2020 составила 940 человек на 100 000 населения, среди них 281 мужчина и 659 женщин [5]. При этом большинство случаев злокачественных новообразований (более 90 %) представлено дифференцированным раком щитовидной железы (ДРЩЖ), к которому относят папиллярный рак щитовидной железы и фолликулярный рак щитовидной железы [6]. На начальном этапе лечения многие пациентов с данным заболеванием проходят процедуру полной тиреоидэктомии, и измерение уровня тиреоглобулина (ТГ) в крови после операции – это эффективный способ мониторинга наличия или отсутствия рецидива для долгосрочного наблюдения, помогающий выстроить стратегию дальнейшего лечения. Высокий уровень ТГ в крови после операции считается критерием рецидива или неполного удаления ткани щитовидной железы, так как тиреоциты являются единственным источником данного белка в организме, поэтому после полной тиреоидэктомии содержание ТГ в крови должно постепенно снизиться до нулевого значения. Учитывая минимальный предел количественного определения распространенных коммерческих диагностических тестов, считается, что у пациента отсутствует рецидив, если уровень ТГ в крови ниже 1 нг/мл. [6]

Цель работы – клонирование фрагментов гена тиреоглобулина человека в клетках прокариот, получение и анализ генно-инженерных конструкций, содержащих различные участки тиреоглобулина, что позволит получать рекомбинантные белки, содержащие N и C концевые участки тиреоглобулина, что позволит совершенствовать диагностику и расширить понимание патогенеза аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

Материалы и методы

Объект исследования: ткань ЩЖ, полученная от пациента. Выделение мРНК: ткань ЩЖ замораживали в жидком азоте и гомогенизировали. Нуклеиновые кислоты очищали от белков и разделяли методом ультрацентрифугирования при 100 000 g в градиенте цезия хлорида. Для получения кДНК использовали ферментативный синтез двухцепочечной кДНК на poly (A)+ – мРНК.

Для трансформации использовали компетентные клетки *Escherichia coli*, штамм XL1 Blue («Евроген», Россия).

Олигонуклеотидные праймеры были подобраны на основе последовательностей нуклеотидов, собранных в Gen Bank с использованием онлайн-программы Primer Blast. Синтезировали пять пар праймеров на различные участки, соответствующие кДНК гена ТГ: первый участок размером 588 п.н. (7381–7968 п.н.), второй участок размером 770 п.н. (7244–8013 п.н.), третий участок размером 864 п.н. (2297–3160 п.н.), четвертый участок размером 902 п.н. (4629–5530 п.н.), пятый участок размером 833 п.н. (5529–6361 п.н.) Олигонуклеотиды для амплификации участков кДНК гена ТГ были синтезированы компанией «Евроген» (Россия). Дизайн олигонуклеотидов проводили в программе Blast NCBI. В качестве матричной последовательности использовали последовательность мРНК тиреоглобулина NM 003235.5, опубликованную в базе данных GeneBank.

Методом ПЦР проведена амплификация фрагментов ДНК различной длины, содержащих участки нуклеотидной последовательности кДНК гена ТГ, для последующего клонирования в векторные системы. проводили с помощью ПЦР – амплификатора T-100 (Bio-Rad). Полученные ПЦР-продукты и пробы ДНК (на этапах клонирования) разделяли методом электрофореза в 1,5 % агарозном геле. ПЦР – продукты выделяли из геля агарозы с помощью набора реактивов Cleanup Standart по методике, рекомендованной производителем.

Реакцию лигирования проводили с помощью набора Quick-TA kit без предварительной обработки рестриктазами в соответствии с инструкцией к набору. Для клонирования полученных ПЦР – продуктов и контроля экспрессии были использованы векторы: pAL2-T, pVax1.

Результаты и обсуждение

Контроль РНК, выделенной из ткани щитовидной железы, и синтез кДНК гена ТГ.

Выделение тотальной РНК проводили согласно методике, описанной в материалах и методах. Выделенные из ткани щитовидной железы (ЩЖ) семь различных образцов тотальной РНК были разделены методом электрофореза в 1,5 % в геле агарозы при напряжении 75 В. Полученная электрофореграмма образцов РНК представлена на рисунке 1.

На матрице выделенной poly(A) – мРНК провели ферментативный синтез двухцепочечной кДНК, включая синтез первой и второй цепи и расщепление петли, связывающей цепи кДНК, нуклеазой S1, специфически разрушающей одноцепочечные участки нуклеиновых кислот. Синтез первой цепи кДНК проводили с помощью РНК-зависимой ДНК полимеразы, олиго 3' праймера, содержащего олиго(dT) последовательность и олигонуклеотидного адаптера, содержащего олиго(dG) последовательность на 3'-конце. Для синтез второй цепи кДНК использовали метод ПЦР с ДНК-полимеразой *E. coli* и праймером M13, соответствующим внешней части олигонуклеотидного адаптера и 3'-праймера. Препарат кДНК хранили при температуре минус 20 °С.

В качестве матрицы для амплификации была использована кДНК из ткани щитовидной железы, синтезированная ранее. С целью оптимизации условий проведения ПЦР для амплификации описанных участков экспрессирующейся последовательности кДНК гена ТГ человека использовали градиент температуры на стадии отжига праймеров (диапазон градиента от 58 до 64 °С). Были получены ПЦР продукты длиной 800–1000 п.н. с использованием пары праймеров 864 п.н. при температуре отжига праймеров 58 и 60 °С и с использованием пары праймеров 833 п.н. при температуре отжига праймеров 62 и 64 °С. Также был получен продукт длиной 770 п.н. с использованием пары праймеров 770 п.н. при температуре отжига праймеров 60 °С. Исходя из приведенных результатов, наиболее оптимальная температура отжига для пары праймеров 864 п.н. составила 58 °С, для пары праймеров 833 п.н. – 62 °С. Для пары праймеров 770 п.н. оптимальная температура отжига составила 60 °С.

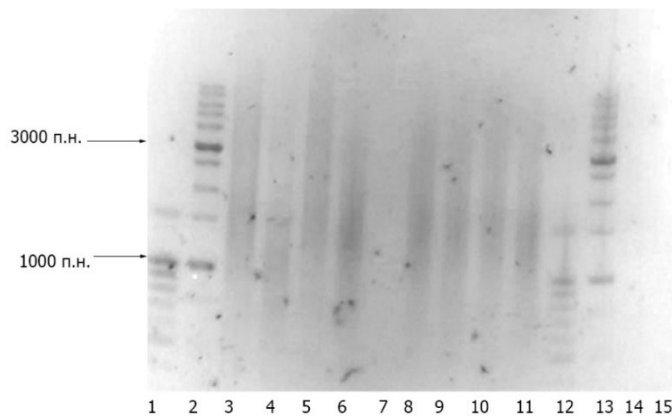


Рисунок 1 – Электрофореграмма образцов РНК в 1,5 % агарозном геле дорожки 1,12 – маркер 100 + bp DNA Ladder; дорожки 2, 13 – маркер 1 kb DNA Ladder; дорожка 3 – РНК образец № 1; дорожка 4 – РНК образец № 2; дорожка 5 – РНК образец № 3; дорожка 6 – РНК образец № 4; дорожки 7, 14, 15 – пустые; дорожка 8 – РНК образец № 5; дорожка 9 – РНК образец № 6; дорожки 10,11 – РНК образец № 7

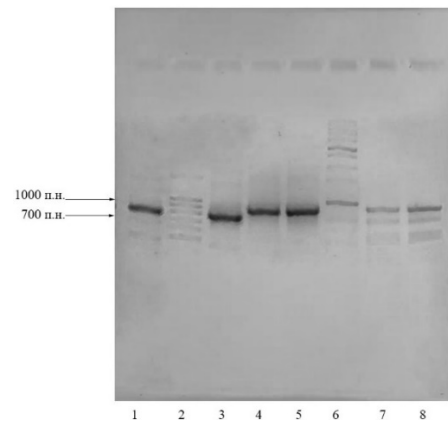


Рисунок 2 – Электрофореграмма ПЦР продуктов (образцы 1–6) в 1,5 % геле агарозы: дорожка 1 – образец 1 (770 п.н.); дорожка 2 – маркер длин 100+bp; дорожка 3 – образец 2 (770 п.н.); дорожка 4 – образец 3 (864 п.н.); дорожка 5 – образец 4 (864 п.н.); дорожка 6 – маркер длин 1kb; дорожка 7 – образец 5 (902 п.н.); дорожка 8 – образец 6 (902 п.н.)

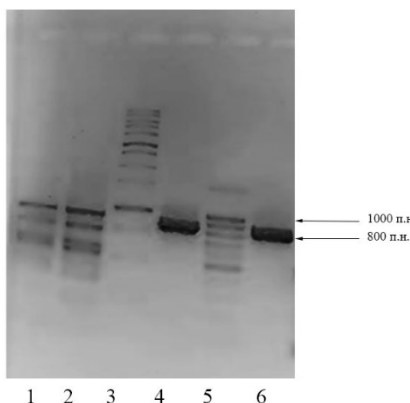


Рисунок 3 – Электрофореграмма ПЦР продуктов (образцы 5–8) в 1,5 % геле агарозы: дорожка 1 – образец 5 (902 п.н.); дорожка 2 – образец 6 (902 п.н.); дорожка 3 – маркер длин 1kb; дорожка 4 – образец 7 (833 п.н.); дорожки 5 – маркер длин 100+bp; дорожка 6 – образец 8 (833 п.н.)

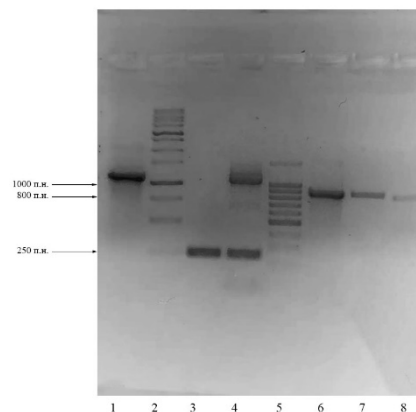


Рисунок 4 – Электрофореграмма ПЦР продуктов, полученных на праймерах M13 и специфических праймерах в 1,5 % геле агарозы: дорожка 1 – образец 7 культура 4/1 (864 п.н.); дорожка 2 – маркер длин 1kb; дорожка 3 – образец 8 культура 4/2 (864 п.н.); дорожка 4 – образец 9 культура 7/1 (833 п.н.); дорожка 5 – маркер длин 100+bp; дорожка 6 – образец 16 культура 4/1 (864 п.н.); дорожка 7 – образец 17 культура 4/2 (864 п.н.); дорожка 8 – образец 18 культура 7/1 (833 п.н.)

Полученные ПЦР продукты длиной 770 п.н. (образцы 1, 2), 864 п.н. (образцы 3, 4) и 833 п.н. (образцы 7, 8) были выделены из геля агарозы и очищены при помощи набора Cleanup Standard согласно инструкции производителя, рисунки 2, 3.

Выделенные ПЦР продукты, содержащие нематричные дезоксиаденозины были встроены в вектор для клонирования под действием Т4 ДНК лигазы. Всего было получено 6 образцов лигазной смеси, в которых ампликоны были представленными полученными ранее ПЦР продуктами. Лигирование проводили согласно методике, описанной в материалах и методах.

Компетентные клетки *E.coli* штамм XL1-Blue были трансформированы полученными образцами лигазной смеси согласно стандартному протоколу.

В результате трансформации и проведения бело-голубой селекции было отобрано по 2 белые колонии каждого из 6 вариантов трансформированных клеток. Отобранные колонии затем культивировались в течение ночи в среде LB с ампициллином. В результате проведения ПЦР с праймерами M13 были получены ПЦР продукты длиной 1109 п.н. на матрице плазмидной ДНК, выделенной из рекомбинантных культуры клеток *E. coli* 4/1, и длиной 1015 п.н. на матрице плазмидной ДНК, выделенной из культуры 7/1. Длина продуктов полностью соответствовала длине сайта поликлонирования, содержащего целевую вставку. При проведении ПЦР с праймерами 864 п.н. на матрице плазмидной ДНК, выделенной из рекомбинантных культур 3/1, 3/2, 4/1, 4/2 были получены продукты длиной 864 п.н., длина продукта, полученного с использованием пары праймеров 833 п.н. на матрице плазмидной ДНК культуры 7/1, составила 833 п.н., рисунок 4. В обоих случаях длина амплифицированных фрагментов полностью соответствовала длине вставки. Дальнейший анализ плазмидной ДНК культур 1/1, де 1/ 2, 2/1, 2/2, проведенный с использованием праймеров M13 и праймеров, специфичных для вставки длиной 770 п.н., не показал наличия вставки в составе вектора. Была определена нуклеотидная последовательность полученных векторов, содержащие участки кДНК гена ТГ. Для участков 864 п.н. (последовательность кДНК гена ТГ 2297–3160 п.н.) и 833 п.н. (последовательность кДНК гена ТГ 5529–6361 п.н.). методом секвенирования была подтверждена полная идентичность, опубликованной в Gen Bank последовательности мРНК тиреоглобулина NM_003235.5. Полученные вставки, содержащие фрагменты кДНК гена ТГ были перенесены в экспрессирующий вектор pVAX 1 для дальнейшей трансфекции в клеточную линию СНО.

Заключение

В нашей работе представлены результаты клонирования двух участков последовательности гена тиреоглобулина человека длиной 864 п.н. (последовательность кДНК гена ТГ 2297–3160 п.н.) и 833 п.н. (последовательность кДНК гена ТГ 5529–6361 п.н.). Для участков 864 п.н. (последовательность кДНК гена ТГ 2297–3160 п.н.) и 833 п.н. (последовательность кДНК гена ТГ 5529–6361 п.н.). методом секвенирования была подтверждена полная идентичность, опубликованной в Gen Bank последовательности мРНК тиреоглобулина NM_003235.5. Полученные вставки, содержащие фрагменты кДНК гена ТГ были перенесены в экспрессирующий вектор pVAX 1 для дальнейшей трансфекции в клеточную линию СНО. Получение рекомбинантных белков, содержащих отдельные антигенные детерминанты тиреоглобулина человека, позволит использовать рекомбинантные белки для совершенствования высокочувствительных иммунохимических тестов нового поколения для определения тиреоглобулина в крови пациентов с дифференцированным раком щитовидной железы, а также для выявления специфических аутоантител в сыворотке крови пациентов с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы. Дальнейшие исследования в этом направлении будут направлены на клонирование других участков гена тиреоглобулина, имеющих большое значение для формирования заболеваний щитовидной железы человека, на разных этапах развития заболевания для проведения ранней диагностики и специфического лечения.

Литература

1. Giovanella, L., Feldt-Rasmussen, U., Verburg F.A., Grebe S.K., Plebani M. and Clark P.M. Thyroglobulin measurement by highly sensitive assays: focus on laboratory challenges // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. – 2015. – Vol. 53. – № 9. – P. 1301–1314
2. Netzel B.C., Grebe S.K., Carranza Leon BG, et al. Thyroglobulin (Tg) Testing Revisited: Tg Assays, TgAb Assays, and Correlation of Results With Clinical Outcomes // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2015. – Vol. 100. – № 8. – P. E1074-E1083
3. Powell R. et al. Recombinant expression of homodimeric 660 kDa human thyroglobulin in soybean seeds: An alternative source of human thyroglobulin // *Plant Cell Rep*. – 2011. – Vol. 30. – № 7. – P. 1327–1338.
4. Saboori AM. et al. Iodination of human thyroglobulin (Tg) alters its immunoreactivity. I. Iodination alters multiple epitopes of human Tg // *Clin Exp Immunol*. – 1998. – Vol. 113. – № 2. – P.297–302.
5. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России – 2021. – илл. – 252 с.
6. Haugen B.R, Alexander E.K., Bible K.C., et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer // *Thyroid*. – 2016. – Vol. 26. – № 1. – P. 1–133.

УДК 615.371

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ВАКЦИН ПРОТИВ ЦЕНУРОЗА

Е.А. Колосова, П.В. Колосов, Ю.А. Меркульева, Д.Н. Щербаков

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», Барнаул, Россия

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия

Церебральный ценуроз (*Coenurosis cerebrealis*) – зоонозное паразитарное неврологическое заболевание, поражающее центральную нервную систему коз и овец. Ценуроз вызывается инфицированием некоторыми видами личинок ленточных червей (метацестодами) *Taenia*, такими как *T. Multiceps*, *T. Brauni*, *T. Serialis* и *T. Glomeratus* [1]. Козы и овцы выступают в качестве промежуточных хозяев, в то время как первичным хозяином являются домашние и дикие собаки, лисы и шакалы [2]. Ценуроз не оказывает значительное клиническое влияние на первичных хозяев, но приводит к увеличению показателя смертности среди молодых ягнят и козлят, что приводит к ежегодному ущербу более 4 млрд. руб. [3].

В настоящее время мероприятия по борьбе с ценурозом у мелкого домашнего скота основаны на использовании вакцин. Гаучи с соавт., разработана рекомбинантная вакцина, содержащая консервативные поверхностные белки личинок (онкосфер) *T. Multiceps* Tm16 и Tm18. Рекомбинантные антигены Tm16 и Tm18 синтезировали при помощи клеток *E.coli* BL21 (DE3) в виде слитых белков с глутатион-S-трансферазой (GST), в качестве белка шаперона [4].

Целью нашей работы является конструирование на основе вектора pET21 рекомбинантных плазмид для экспрессии рекомбинантного антигена Tm16 слитого с разными белками шаперонами и оптимизация условий культивирования штаммов продуцентов.

В структуру вектора включен: промотор бактериофага T7, обеспечивающий эффективную транскрипцию мРНК, оператор LacO, регулирующий возможность экспрессии целевого гена, сайт связывания рибосомы (RBS), ген *AmpR*, кодирующий бета-лактамазу, расщепляющий антибиотик ампициллин, используемый как фактор селекции, и терминатор бактериофага T7, обеспечивающий терминацию транскрипции белка.

В качестве белков шаперонов использовали глутатион-S-трансферазу (GST) и прокариотическую дисульфид изомеразу (DsbC). Нуклеотидные последовательности, кодирующие GST и DsbC, находятся на N-конце слитого белка.

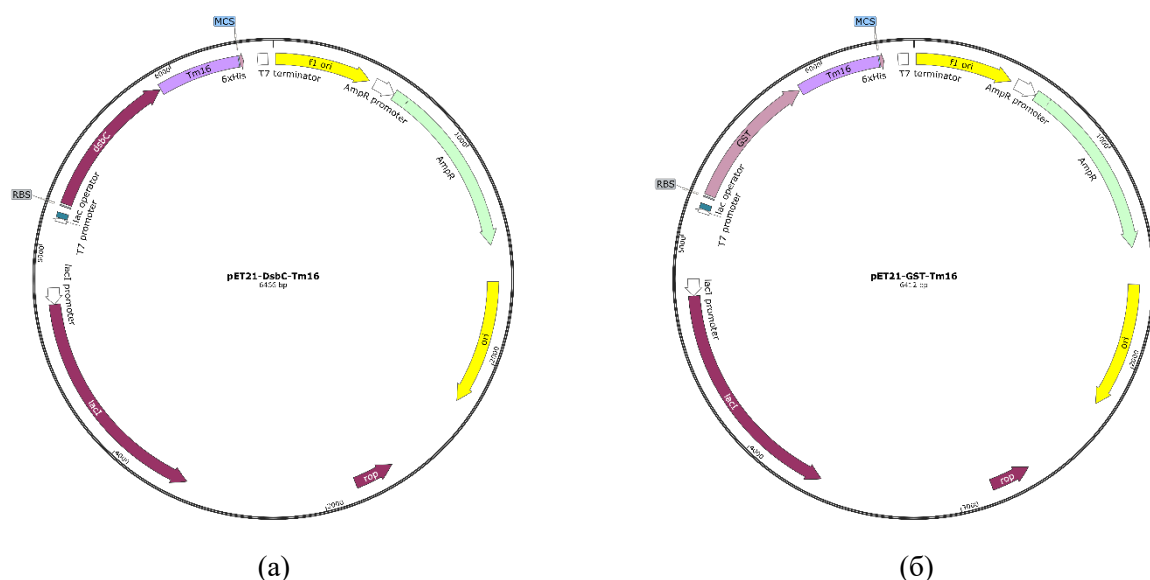


Рис. 1 – Генетическая карта векторов, кодирующие слитые белки: (а) – DsbC-Tm16; (б) – GST-Tm16

Ген Tm16 синтезировали в составе плазмиды pHG_Tm16, обрабатывали ферментами *Ple19I* и *PspXI*, очищали в 1,5 % агарозном геле и экстрагировали набором для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей (Евроген, Россия).

Гены GST и DsbC синтезировали в составе плазмид pGEX-2T, обрабатывали FauNDI и Ple19I, очищали в 1,0 % агарозном геле и экстрагировали набором для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей (Евроген, Россия).

Полученные последовательности клонировали в состав экспрессирующего вектора pET21 по сайтам рестрикции FauNDI и PspXI, таким образом, чтобы слитый белок находился в единой рамке считывания. Полученными плазмидами трансформировали клетки *E.coli* Stb13 с добавлением в питательную среду антибиотика ампициллина. У полученных трансформантов выделяли плазмидную ДНК и секвенировали для проверки отсутствия делеций и правильности сборки конструкций.

Полученными векторами pET21-GST-Tm16 и pET21-DsbC-Tm16 трансформировали штамм *E. coli* BL21 (DE3). Индивидуальные колонии культивировали в шейкер-инкубаторе в среде YTx2 при 37 °C при 180 об/мин до оптической плотности 0,4 при 600 нм. Далее индукцию проводили параллельно при 16 и 37 °C и с различным (0,1 mM и 1 mM) содержанием индуктора ИПТГ при 180 об/мин в течение 24 ч. Далее произвели отбор культуральной жидкости объемом 1 мл, отделили биомассу центрифугированием при 4500g при 4 °C в течении 15 мин., удалили супернатант и ресуспендировали в 100 мкл раствора, содержащего 8M мочевины, 500 mM хлорида натрия и 50 mM дигидрофосфата натрия, с pH 7,4. Идентификацию слитого белка в биомассе осуществляли посредством разделения белков в ПААГ в денатурирующих условиях с последующим окрашиванием Кумасси (рис. 2).

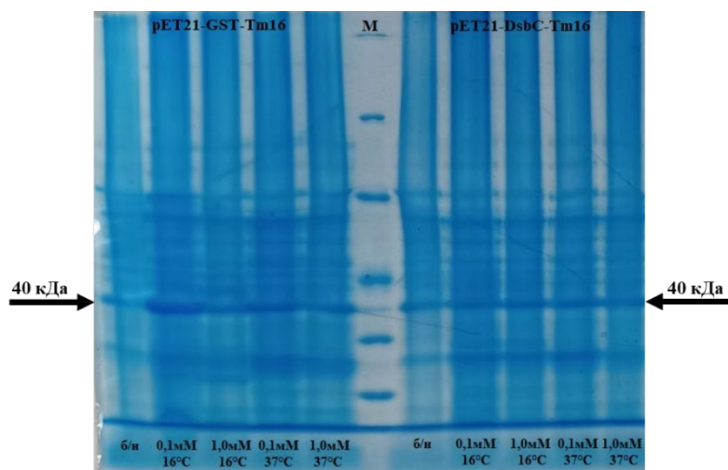


Рис. 2 – Электрофореграмма разделения белковых препаратов в ПААГ: М – маркер молекулярных масс

На рис. 2 можно наблюдать полосы, соответствующие слитым белкам DsbC-Tm16 и GST-Tm16 с ожидаемой молекулярной массой 39,5 кДа и 39,4 кДа соответственно. Наибольший синтез белка был достигнута при культивировании штамма *E.coli*, содержащего вектор pET21-GST-Tm16, при 16 °C с добавлением 0,1 mM ИПТГ в течении 24 ч.

Таким образом, в ходе работы на основе вектора pET21 были сконструированы вектора, содержащие 2 варианта шаперонов DsbC и GST, обеспечивающие синтез слитых белков, включающий рекомбинантный поверхностный белок онкосфер *T. multiceps* Tm16 в культуре *E.coli* BL21 (DE3). Показан синтез целевых слитых антигенов DsbC-Tm16 и GST-Tm16. Подобраны условия для максимальной продукции антигена Tm16.

Литература

1. Ahn S. et al. Cerebral Coenurosis of a Long-Tailed Goral, *Naemorhedus caudatus*, in Korea //The Korean Journal of Parasitology. – 2021. – Т. 59. – №. 1. – С. 55.
2. Scala, A.; Varcasia, A. Updates on morphobiology, epidemiology and molecular characterization of coenurosis in sheep. *Parassitologia* 2006, 48, 61–63.
3. Воробьева Т.Ю., Акбаев Р.М., Василевич Ф.И. Ценуроз церебральный: распространение, диагностика и меры борьбы // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2015. № 16.
4. Gauci C. et al. Vaccination with recombinant oncosphere antigens reduces the susceptibility of sheep to infection with *Taenia multiceps* //International journal for parasitology. – 2008. – Т. 38. – №. 8–9. – С. 1041–1050.

УДК 577

ИССЛЕДОВАНИЕ АВТОНОМНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ SH3-ДОМЕНА

К.С. Никольский, Л.И. Куликова, Д.В. Петровский, В.Р. Руднев, А.Л. Кайшева

Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

Работа посвящена исследованию автономной стабильности пространственно компактного SH3-домена, который широко представлен в белках всех живых организмов. SH3-домен характеризуется β -бочкообразной укладкой полипептидной цепи в пространстве, состоит из пяти или шести β -тяжей, которые организованы в два плотно упакованных антипараллельных β -слоя. Структурный мотив имеет длину около 60 аминокислот. Длина нерегулярных участков между β -тяжами варьирует от 2 до 24 аминокислот. Нерегулярные участки могут содержать виток α - или 3_{10} -спирали. Длины β -тяжей также варьируют. Характерной особенностью структурного мотива является ярко выраженное гидрофобное ядро, которое стабилизировано водородными и гидрофобными взаимодействиями. На рисунке 1 изображен типичный представитель SH3-домена в нескольких ракурсах.

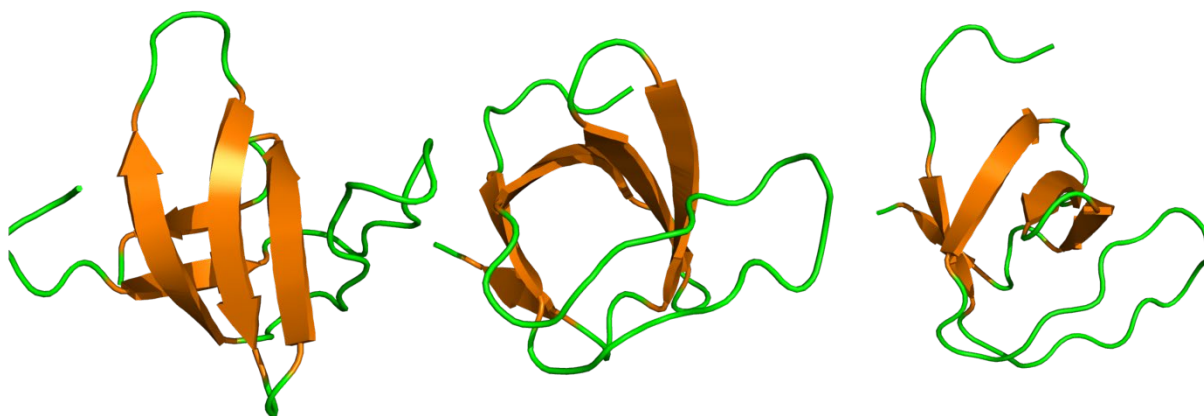


Рисунок 1. Изображения структурного мотива SH3-домен в факторе обмена гуаниновых нуклеотидов $\rho 7$ (PDB ID 2ESW, цепь A) с разных ракурсов. Оранжевым цветом выделены β -тяжи, зеленым – нерегулярные участки между β -тяжами (перетяжки)

В природе SH3-домены широко представлены как в малых, так и в среднеразмерных и крупных гомологичных и негомологичных белках различных живых организмов. SH3-домены встречаются в белках актинового цитоскелета, являются участниками различных сигнальных путей, включая регуляцию клеточного роста, эндоцитоз [1–5]. SH3-домен активно используется в решении задач биоинженерии в качестве «строительного блока» при создании искусственных ферментов [6]. В области биомедицины – в разработке белков для васкулярной маркировки опухолей [7], контроля активности лизоцима [8].

Всестороннее исследование этого структурного мотива является важной задачей: необходимо определить особенности пространственной организации, внутренних контактов и автономную стабильность мотива вне белкового окружения.

С использованием методов искусственного интеллекта выявлены и аннотированы 1914 белков различного размера, содержащих в своем составе исследуемый структурный мотив.

С целью обоснования автономной стабильности мотива были проведены эксперименты молекулярной динамики (МД) в трех температурных режимах (300K, 340K и 370K): малых белков, имеющих пространственную укладку этого мотива; целых белков, содержащих в своем составе исследуемую укладку; автономных мотивов вне белкового окружения.

Проведен анализ основных характеристик стабильности структур: радиус гирации, площадь, доступная на растворитель (SASA), количество гидрофобных связей, количество водородных контактов и среднеквадратичное отклонение C_{α} -атомов (RMSD). Также вычислялись значения среднеквадратичных отклонений для C_{α} -атомов на протяжении траектории (RMSF).

Проведенные исследования с малыми белками, имеющими пространственную укладку SH3-доменов, показали стабильность этих белков. Поведение мотивов в белковом окружении в ходе МД по всем показателям также демонстрирует устойчивость исследуемого мотива. Поведение автономных SH3-доменов (предварительно экстрагированных из средне- и крупноразмерных белков) свидетельствует также в пользу сохранности пространственной структуры. Для подавляющего количества автономно участвовавших в эксперименте молекулярной динамики структур среднее значение RMSD при температуре 300K не превышает 2 Å (RMSD < 2 Å), а при температурах 340K и 370K – не превышает значений, определенных в рамках экспериментов с целыми белками, содержащих в своем составе исследуемую укладку [9].

Нами также показано, что наибольшую мобильность в составе мотива имеют неструктурированные участки, в то время как β-тяжи сохраняют регулярную структуру и пространственную ориентацию даже при высоких температурах (см. таблица 1).

Таблица 1. Значения RMSF для элементов вторичной структуры в составе SH3-домена, исследованных автономно (вне белка).

Температура	Ср.зн. RMSF для нестр. уч., Å	RMSF нестр. уч. станд. откл	Ср.зн. RMSF для β-тяжей, Å	RMSF β-тяжей, станд. откл
300K	1,39	0,8	0,69	0,18
340K	1,69	0,75	0,9	0,28
370K	2,53	2,19	1,15	0,66

Из таблицы 1 видим, что средние значения RMSF для аминокислотных остатков, образующих β-тяжи, значительно меньше средних значений RMSF для аминокислотных остатков в составе неструктурированных участков. При этом разброс значений (определяемый по стандартному отклонению) для β-тяжей существенно ниже, чем для неструктурированных фрагментов.

Таким образом, результаты исследования показывают, что исследуемый структурный мотив автономно стабилен (вне белкового окружения) в водной среде, что позволяет рассматривать его в качестве самостоятельного структурного блока для решения широкого круга теоретических и практических задач.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований Российской Федерации на долгосрочный период 2021–2030 гг. (№122092200056–9).

Литература

1. Teyra, J., Huang, H., Jain, S., Guan, X., Dong, A., et al. Comprehensive Analysis of the Human SH3 Domain Family Reveals a Wide Variety of Non-Canonical Specificities. *Structure* **2017**, 25 (10), 1598–1610.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2017.07.017>.
2. Morton, C.J., Campbell, I.D. SH3 Domains. Molecular “Velcro.” *Curr Biol* **1994**, 4 (7), 615–617. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00134-2](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00134-2).
3. Schlessinger, J. SH2/SH3 Signaling Proteins. *Current Opinion in Genetics & Development* **1994**, 4 (1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/0959-437X\(94\)90087-6](https://doi.org/10.1016/0959-437X(94)90087-6).
4. Koch, C.A., Anderson, D., Moran, M.F., Ellis, C., Pawson, T. SH2 and SH3 Domains: Elements That Control Interactions of Cytoplasmic Signaling Proteins. *Science* **1991**, 252(5006), 668–674. <https://doi.org/10.1126/science.1708916>.
5. Kishan, K.V., Agrawal V. SH3-like fold proteins are structurally conserved and functionally divergent. *Curr Protein Pept Sci*. **2005**. 6(2):143–50. doi: 10.2174/1389203053545444.
6. Horn Anselm, H.C., Sticht Heinrich. Synthetic Protein Scaffolds Based on Peptide Motifs and Cognate Adaptor Domains for Improving Metabolic Productivity. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **2015**. 3, 2296–4185. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00191>.
7. Grabulovski, D., Kaspar, M., Neri, D. A novel, non-immunogenic Fyn SH3-derived binding protein with tumor vascular targeting properties. *The Journal of Biological Chemistry*. **2007**. 282(5):3196–3204. doi: 10.1074/jbc.m609211200.
8. Elizabeth, Pham, Kevin, Truong. Engineered regulation of lysozyme by the SH3-CB1 binding interaction. *Protein Engineering, Design and Selection*. **2012**. 25(6): 307–311, <https://doi.org/10.1093/protein/gzs020>.
9. Nikolsky, K.S. et al. Three-helix bundle and SH3-type barrels: autonomously stable structural motifs in small and large proteins. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. **2023**. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2250450>.

УДК 579

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА И МЕТИЛАМИНА ТИПОВЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА HANSSCHLEGELIA**Н.В. Агафонова***Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФИЦ Пушчинский научный центр биологических исследований РАН, Пушкино, Россия*

Бактерии рода *Hansschlegelia* являются аэробными метилотрофами, т. к. используют в качестве источников углерода и энергии различные C_1 -соединения (метанол, метиламин, формальдегид и др.). Представители рода встречаются в различных местах обитания (филлосфера и ризосфера растений, с/х и загрязненные почвы), являются фитосимбионтами, а также деструкторами некоторых гербицидов. Недавно были секвенированы геномы всех типовых представителей данного рода: *H. plantiphila* S₁^T (номер в NCBI GenBank BSFI000000000), *H. zhihuaiae* S 113^T (RYFI000000000), *H. beijingensis* PG04^T (JACIDR000000000) и *H. quercus* Dub^T (SIUB000000000).

Цель работы – геномный анализ метаболизма метанола и метиламина у типовых представителей рода *Hansschlegelia*. Поиск и аннотацию генов проводили с использованием сервера RAST v. 2.0, с последующей проверкой в результате сравнения предсказанных генов с базами данных NCBI GenBank.

Согласно результатам геномного анализа штаммы окисляют метанол до формальдегида двумя различными метанолдегидрогеназами (МДГ). В геномах всех типовых штаммов обнаружен кластер генов *mxa*, состоящий из 13 генов (*mxaHFJGIRSACKLDE*), кодирующих классическую PQQ-зависимую МДГ. Кроме того, обнаружены множественные гены, кодирующие лантаноид-содержащую МДГ *ХохF*-типа. Геном *H. plantiphila* S₁^T содержит кластеры генов *хоxFJG*, *хоxFJ* и две копии генов *хоxF*; в геноме *H. quercus* Dub^T – кластер *хоxFJ* и ген *хоxF*; *H. beijingensis* PG04^T и *H. zhihuaiae* S113^T содержат только кластер *хоxFJ*. Все типовые штаммы имеют генетические детерминанты ключевых ферментов изоцитратлиазо-отрицательного варианта (*icl*–) серинового пути C_1 -метаболизма: оксипируватредуктазы (*hpr*) и серин-глиоксилатаминотрансферазы (*sga*), при этом отсутствует ген *асеА*, кодирующий изоцитратлиазу.

Циклическая регенерация глиоксилата типовыми штаммами осуществляется по этилмалонатному пути (геномы содержат гены *croR*, *crr*, *pssAB*, *ibd2*, *meaAB*, *mcmAB* и *erm*), вкупе с реакциями цикла Кребса (*sdhABCD*, *fumA*, *sucCD*) и биосинтеза полигидроксиалканоатов (*phaABR*). Обнаружены гены изоцитрат- и α -кетоглутаратдегидрогеназы, свидетельствующие о том, что цикл Кребса замкнут. По всей вероятности, рибулозомонофосфатный и рибулозобисфосфатный пути не участвуют в первичной C_1 -ассимиляции у этих штаммов, т. к. гены, кодирующие ключевые ферменты этих путей (*hps*, *гексулозофосфатсинтаза*; *cbbL*, *рибулозобисфосфаткарбоксилаза*), не найдены.

Для ассимиляции NH_4^+ все штаммы используют глутаматный цикл, о чем свидетельствует наличие генов, кодирующих ферменты глутаминсинтазу (*glnA*) и α - и β -субъединицы глутаматсинтазы (*gltBD*), а также восстановительное аминирование α -кетоглутарата (*gdh*).

Анализ геномов типовых представителей рода позволяет предположить, что все штаммы, вероятно, способны осуществлять утилизацию метиламина по *N*-метилглутаматному пути, поскольку выявлен кластер генов, кодирующий три специфических фермента (*mgdABCD*, *N*-метилглутаматдегидрогеназа; *mgsABC*, *N*-метилглутаматсинтаза; *gmaS*, γ -глутамилметиламидсинтаза) этого пути. В геномах типовых штаммов не удалось обнаружить ген *mauA*, кодирующий малую субъединицу метиламиндегидрогеназы, катализирующей реакцию прямого окисления метиламина в формальдегид.

Таким образом, проведенный анализ геномов выявил основные пути метаболизма метанола и метиламина: показано, что типовые представители рода *Hansschlegelia* реализует *icl*– вариант серинового пути C_1 -метаболизма, а метиламин утилизируют посредством *N*-метилглутаматного пути.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ АМАРАНТА В КОРМОПРОИЗВОДСТВЕ ПТИЦ**С.В. Образцова, О.В. Бондарева, Т.В. Свиридова, О.С. Корнеева***Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

В Российской Федерации птицеводство занимает лидирующие положение среди других подотраслей животноводства. В 2023 году объем производства мяса птицы достиг 52 %, однако, наряду с данным увеличением наблюдается рост в ценовом сегменте. В первую очередь, цена на мясо птицы обусловлена рекордным ростом стоимости на комбикорма и кормовые ингредиенты. В связи с этим, дальнейшее развитие птицеводческой отрасли тесно связано с улучшением и созданием отечественной кормовой базы и генетикой птиц [1].

Современная база комбикормов включает в себя применение биологически активных веществ таких как ферменты, аминокислоты, белково-витаминные концентраты, пробиотики и др. Однако, в России производство комбикормов и премиксов в значительной степени ведется без использования альтернативных источников биологически активных веществ. При применении данных кормов в рационе птиц наблюдается значительное отставание их продуктивных показателей от мирового уровня, что приводит к снижению конкурентоспособности российского птицеводства. В настоящее время является актуальным поиск и использование новых кормовых ингредиентов в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы для балансирования их рациона по аминокислотам [2].

В настоящее время наиболее перспективным видом сырья для производства кормовых добавок является амарант. Он становится более популярным на рынке сельскохозяйственной продукции за счет своей низкой стоимости, высокой урожайности, простотой возделывания и уникальным химическим составом. Амарант содержит 14–20 % легкоусвояемого белка, 6 % растительных масел с высоким содержанием сквалена, витамины В, С, Е, Р, каротиноиды, макро-, микроэлементы. По аминокислотному составу белок амаранта не уступает соевому белку и молочному казеину, имеет высокую перевариваемость (90 %), сбалансирован по количеству незаменимых аминокислот, таких как лизин, метионин, цистин, которые не содержатся в традиционных злаковых и бобовых культурах. По количеству лизина амарант в 2 раза превосходит пшеницу и в 3 раза – кукурузу [4]. В надземной части амаранта содержится около 10 % пектина. Зеленая масса молодых растений амаранта содержится до 28 % белка, что характеризует его как высокобелковую культуру, и около 7 % клетчатки. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН FAO, коэффициент функциональной нагрузки продукта у амаранта самый низкий и составляет 0,08, в то время как у ячменя – 0,32, кукурузы – 0,62. В последнее десятилетие амарант все чаще применяют в качестве источника белка, содержащего незаменимую аминокислоту лизин, которая не содержится в традиционных злаковых и бобовых растениях [4].

Отечественными учеными доказано, что включение амаранта в состав рационов сельскохозяйственных животных и птицы положительное влияние на продуктивность, сохранность и физиологическое состояние кур-несушек практически всех возрастных групп, без увеличения, как стоимости кормов, так и затрат корма. Зерно и высушенная фитомасса амаранта могут заменить продукты животного происхождения – мясокостную и рыбную муку в составе комбикормов для свиней и цыплят-бройлеров, высокобелковые растительные кормовые добавки – соевый и подсолнечниковый шроты в рационах кур-несушек [5].

Разработка кормовой добавки в виде витаминно-травяной муки из зеленой массы амаранта позволит обогатить рацион птиц высоким белковым продуктом, что окажет положительное влияние на репродуктивные функции, рост, прочность скорлупы яиц, а также резистентность организма.

Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 22-76-00062.

Литература

1. Нормова, Т.А. Долгосрочные перспективы развития птицеводства в России / Т.А. Нормова, Р.В. Схабо, П.В. Шимко // Вестник Академии знаний, 2020. – № 38 (3). – С. 218–239.
2. Морозов В.С. Федеральная научно-технологическая программа развития сельского хозяйства на 2017–2025 годы // Матер. докл. XXIV Междунар. специализир. торгово-промышленная выставка «MVC: Зерно-Комбикорма-Ветеринария-2019», М., ВДНХ, 29.01.2019.; Комбикормовая индустрия замедляется // Агроинвестор, 2019. – № 1. – С. 46–50.
3. Хошимжонова Н. Амарант – как нетрадиционная культура многоцелевого использования // ScienceandEducation ScientificJournal. – September2020. – V. 1, N. 6. – P. 27–34.3
4. Kondrat'ev V.B. The global pharmaceutical industry. Available at: http://perspektivy.info/rus/ekob/globalnaja_farmaceuticheskaja_promyshlennost_2011-07-18.html. (accessed 23.06.2013)
5. Адыгезалов А.М. Объективная возможность замены зерновых на зерна амаранта в кормлении растущих птиц // Инновационные направления в химизации земледелия и сельскохозяйственного производства: материалы Всероссийской науч.-пр. конф. с межд. уч. (19–21 июня 2019 г.). – Белгород: ООО «Принт», 2019. – С. 538–544

УДК 579.6

БИОМИМЕТИЧЕСКОЕ ИНКАПСУЛИРОВАНИЕ И БИОСОВМЕСТИМЫЕ ПОЛИМЕРЫ – ГИДРОГЕЛИ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ**О.Н. Пономарева¹, Д.Г. Лаврова¹, А.Н. Звонарев², Т.Г. Хонина³, В.А. Алферов¹**¹ ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия² ФИЦ ПНЦБИ – Институт физиологии и биохимии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН³ ФГБУ Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского ОС УрО РАН

Создание функциональных материалов на основе инкапсулированных биомолекул и целых клеток без изменения их морфологии или активности является актуальной задачей в области биотехнологии при создании искусственных органов; разработке биосенсоров; стабильных биокатализаторов; биопрепаратов для очистки от стоков и объектов окружающей среды от загрязнений; систем доставки в организм человека лекарств, биологически активных веществ, биомолекул; и других практических приложений. Материалы, основанные на поликремниевых кислотах, способны удерживать воду без значительного набухания, химически и биологически инертны, механически прочны, поэтому обеспечивают комфортное окружение для биомолекул и живых клеток [1]. Инкапсулирование целых клеток микроорганизмов в силикатные матрицы имитирует природные одноклеточные организмы – диатомовые водоросли, способные к формированию на своей поверхности защитного экзо-скелета из наноструктурированного кремнезема. При получении искусственных «живых» биоматериалов со структурой «клетка в оболочке» используют мягкие методы золь-гель химии кремнезема при участии структуроуправляющих соединений. Имобилизация в органосиликатных композитах приводит к стабилизации каталитической активности микроорганизмов и дает возможность многократно или непрерывно использовать биокатализаторы. В качестве исходных соединений (прекурсоров) часто используют тетраэтоксисиланы (ТЭОС), иногда в смеси алкилтриэтоксисиланами (метилтриэтоксисилан, МТЭС) для придания матрице гибкости и увеличения размера пор за счет гидрофильно-гидрофобных взаимодействий в реакционной системе [2]. В процессе гидролиза и конденсации этих прекурсоров выделяется этиловый спирт, который разрушает нативную структуру биомолекул и негативно влияет на жизнеспособность микроорганизмов в реакционной системе. Для инкапсулирования биомакромолекул (полисахаридов, белков) в органосиликатные гели предложено использовать тетраполиэтиленгликоляты кремния, которые не вызывают денатурации биомолекул [3]. Однако информации об использовании этих прекурсоров для имобилизации живых клеток нам не удалось найти. Важно отметить, что конечная структура биогибридного материала (инкапсулированных в органосиликатные матрицы биомолекул или клеток) зависит от многих факторов (соотношение прекурсоров – кремнийорганических соединений, характеристики структуроуправляющих агентов, соотношения реагентов в системе, pH, присутствия в реакционной среде нуклеофильных и амфифильных соединений, в том числе на поверхности биоматериала и т. д.).

Для выяснения влияния клеточных стенок микроорганизмов и типа кремнийорганических прекурсоров на структуру образующегося гибридного материала и жизнеспособность инкапсулированных клеток применили две исходные системы реагентов, в состав которых входил ПЭГ в качестве матрицы композита и ТЭОС как прекурсор в синтезе частиц кремнезема, играющих роль наполнителя (композиты 1 и 2) и различные микроорганизмы (грамположительные бактерии *Bacillus atrophaeus* VKN B-723; аскомицетные дрожжи: метилотрофные дрожжи *Ogataea polymorpha* VKM Y-2559 и *Pichia pastoris* BG10 и дрожжи – продуценты киллер-токсинов *Wickerhamomyces anomalus* VKM Y-3037; базидиомицетные дрожжи продуценты гиколипидов *Cryptococcus humicola* 9–6; одноклеточные водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* WT (со стенкой и без стенки)). В составе композита 1 кроме ТЭОС использовали МТЭС в соотношении TEOS:MTES 15:85 [4]. В композитах ПЭГ отличался по молекулярной массе (в композите 1 использовали ПЭГ3000, в композите 2 – ПЭГ400), что было обусловлено разными методологическими подходами в синтезе полиэтиленгликолятов кремния [5]. Процессы золь-гель синтеза и инкапсулирования микроорганизмов проводили в Na-K-фосфатном буфере (pH 7,6) в присутствии катализатора фторида натрия. Жизнеспособность иммобилизованных микроорганизмов оценивали методом флуоресцентной микроскопии с использованием системы красителей для идентификации живых и мертвых клеток (Live/Dead Yeast Viability Kit). Структурные особенности биогибридных композитов изучали методом сканирующей электронной микроскопией.

На рисунке 1 представлены микрофотографии иммобилизованных в композит 2 микроорганизмы на срезе в присутствии флуоресцентных красителей. На основании зеленого свечения можно заключить, что все клетки имели неповрежденную мембрану и были жизнеспособны. Иммобилизованные в композит 1 микроорганизмы частично окрашивались в красный цвет (данные не показаны). Однако высев микроорганизмов из геля позволил заключить, что клетки сохранили жизнеспособность. Мы предполагаем, что этанол, образующийся в реакциях золь-гель синтеза, приводит к премеабиллизации мембраны и диффузии красителя в клетки, но, несмотря на это, жизнеспособность микроорганизмов сохраняется и в композите 1.

В гибридном материале на основе композита 1 клетки разных микроорганизмов покрыты сферическими частицами золя. Иммобилизация микроорганизмов композит 2 приводит к формированию менее объемной пленкоподобной оболочки вокруг клеток (рис. 1 вверху). Подобная структура нами была получена ранее при иммобилизации дрожжей в органосиликатные композиты из ТЭОС, МТЭС и низкомолекулярного ПЭГ1000. Образование такой структуры композита, вероятно, объясняется как меньшим содержанием воды в системе и формированием сети полимера у поверхности клеток дрожжей за счет взаимодействия силанольных групп (-Si-OH), как центров зацепления низкомолекулярных ПЭГ, которые в водных растворах располагаются в виде линейных цепей [6].

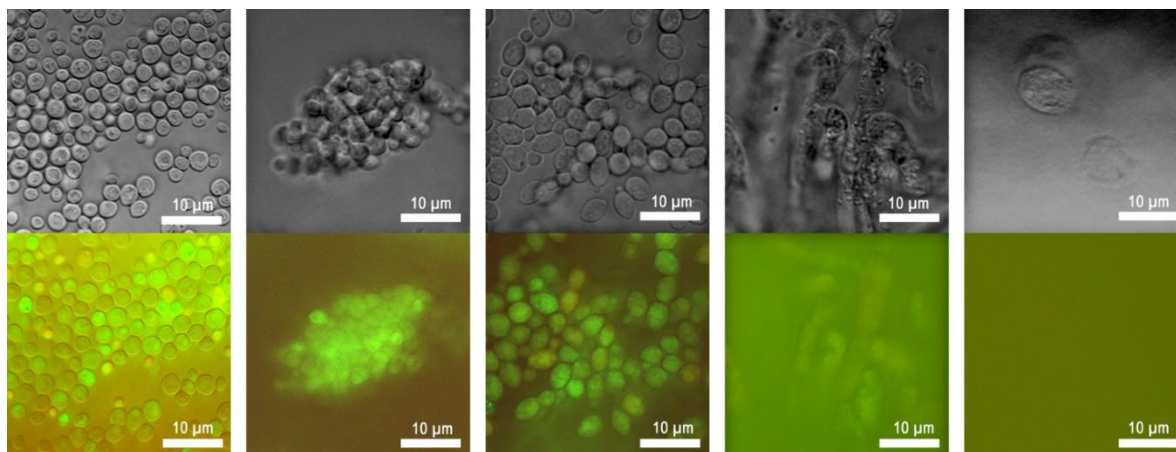


Рисунок 1. Микрофотографии гибридных материалов с инкапсулированными микроорганизмами (слева направо): *Ogataea polymorpha* VKM Y-2559; *Pichia pastoris* BG10; *Wickerhamomyces anomalus* VKM Y-3037; *Cryptococcus humicola* 9-6; *Chlamydomonas reinhardtii* WT (со стенкой). Вверху – СЭМ, внизу – флуоресцентная микроскопия. Бар-метка 5 мкм

Исследования по иммобилизации микроорганизмов с разным строением клеточной поверхности и типом метаболизма в силикатные гели и органосиликатные композиты, проводимые в нашем научном коллективе в последние десять лет, в том числе, представленные в этой работе позволили выявить некоторые закономерности формирования «живых» гибридных материалов определенной архитектуры.

- Жизнеспособность иммобилизованных в кремнезем микроорганизмов обеспечивают гидрофильные полимеры, которые формируют гидрогели не только в растворе, но и на поверхности клеток.
- Этиловый спирт, образующийся в реакциях золь-гель синтеза, увеличивает пермеабиллизацию мембран клеток, но не приводит к гибели микроорганизмов. Применение биосовместимых прекурсоров позволяет убрать негативный эффект спирта на живые клетки.
- Гидрофобно-гидрофильные взаимодействия в системе влияют структуру биогридного материала.
- Инкапсуляция в кремнезем микроорганизмов принципиально не зависит от строения клеточной стенки, а скорее зависит от присутствующих на поверхности функциональных групп.

Литература

1. Abdelhamid, M.A.A. and S.P. Pack, Biomimetic and bioinspired silicifications: Recent advances for biomaterial design and applications. *Acta Biomaterialia*, 2021. 120: 38–56.
2. Ponamareva, O.N., et al., Biohybrid of methylotrophic yeast and organically modified silica gels from sol–gel chemistry of tetraethoxysilane and dimethyldiethoxysilane. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 2019. 92(2): 359–366.
3. Postnova I. et al. Hyperbranched polyglycerol hydrogels prepared through biomimetic mineralization. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. Elsevier B.V., 2013. 103: 31–37.
4. Ponamareva, O.N., et al., Yeast-based self-organized hybrid bio-silica sol–gels for the design of biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015. 67: 321–326.
5. Knonina T.G. et al. Features of silicon – and titanium–polyethylene glycol precursors in sol–gel synthesis of new hydrogels for medical application // *J. Mater. Chem. B*. 2012. 1–11.
6. Lavrova, D.G., et al., Impact of hydrophilic polymers in organosilica matrices on structure, stability, and biocatalytic activity of immobilized methylotrophic yeast used as biofilter bed. *Enzyme Microb Technol*, 2021. 150: 109879.

УДК 582

<https://doi.org/10.20914/2304-4691-2023-1-65>

МИКРОВОДОРОСЛИ КАК ОБЪЕКТ МАССОВОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

А.А. Дерканосова, С. Ниширимана, А.В. Дранников, И.С. Косенко, А.В. Алехина

Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

Микроводоросли и макроводоросли имеют ряд преимуществ (питание, биоконтроль, иммунитет и т. д.) для домашнего скота (здоровье и питание животных), особенно в контексте интегрированной мультитрофической аквакультуры. Актуальны разработки направленные на улучшение биодоступности/усвояемости и предварительной обработки водорослей, а также на контроль сельскохозяйственных культур с высоким содержанием белка (макро/микро) [1].

Использование водорослей в области здравоохранения и питания растений не остается в стороне, особенно в районе, где развито органическое земледелие. Важной целью является содействие коммерческому развитию рынка биостимуляторов водорослей и поддержка производителей в диверсификации их продуктов, поддержки в рамках требований нормативно-правового поля [2].

Водоросли обладают большим потенциалом в области биоконтроля, особенно для конкретного применения – огородничество, виноградные лозы и т. д., большое количество побочных продуктов водорослей доступно для внесения удобрений в рамках подхода к рециркуляции минералов и азота [3].

Микроводоросли (включая цианобактерии*) – это одноклеточные существа, которые используют световую энергию для роста. Когда культивируется всего несколько десятков видов микроводорослей (несколько сотен тысяч в естественной среде), ежегодное мировое производство составляет около 10 000 тонн. Наиболее культивируемыми видами в порядке убывания являются: *Arthrospira* (спирулина), на долю которой приходится 50 % мирового производства, за ней следуют хлорелла, дуналиелла, наннохлоропсис и ондетелла. Производство микроводорослей еще не достигло промышленной стадии, отчасти из-за его все еще относительно высоких затрат.

Литература

1. Абдулагатов И.М., Алхасов А.Б., Догеев Г.Д., Тумалаев Н.Р., Алиев, Р.М., Бадавов Г.Б., Алиев А.М., Салихова А.С. Микроводоросли и их технологические применения в энергетике и защите окружающей среды // *Юг России: экология, развитие*. 2018. Т. 13, № 1. С. 166–183.
2. Авсян А.Л. Влияние суточного светового режима на продуктивность культуры *Arthrospira platensis* Gomont // *Вопросы современной альгологии*. 2018. № 3 (18).
3. Боровков А.Б., Геворгиз Р.Г. Продуктивность *Spirulina platensis* и *Tetraselmis viridis* при использовании различных методов культивирования // *Экология моря*. 2005. Вып. 70. С. 9–13.

РАЗРАБОТКА СЕЛЕКЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СОРТОВ РИСА С ВЫСОКИМ ПИЩЕВЫМ КАЧЕСТВОМ ЗЕРНА

Е.Г. Савенко, С.В. Горюнова, Ж.М. Мухина, В.А. Глазырина, Л.А. Шундрин

ФГБНУ «ФНЦ риса», Краснодар, Россия

Для обеспечения здорового питания современный рынок рисовой крупы требует продукт с приоритетом признаков пищевой и питательной ценности. Целью исследований являлось создание алгоритма в селекции риса с использованием классических методов, фенотипирования, клеточных технологий *in vitro*, генотипирования экспериментальных растений путем секвенирования для выведения конкурентоспособных сортов, обладающих комплексом признаков.

Для гибридизационных программ на повышение пищевой ценности рисовой крупы из коллекции «ФНЦ риса» выделен ряд перспективных для отечественной селекции образцов с высокими показателями окрашенного и неокрашенного зерна. На основании фенотипирования по признакам, определяющим пищевую ценность зерна, отобраны образцы риса, сочетающие высокие технологические признаки качества с повышенным содержанием белка и различные по содержанию амилозы (низкое, среднее и высокое). К среднеамилозным отнесены сорта: Рубин (21,8 %), Мавр (24 %), CRLB-1 (24,0 %), ВНИИР 6189 (23,2 %); к высокоамилозным: IVORON ANJALI (29,8 %), Taibonnet (27,4 %), ПВ-1JR79499–84 (26,2 %); сорт Южная ночь (4,6 %) к восковидным (или умеренно низкоамилозным); остальные 22 сорта – к низкоамилозным (15,6–20,2 %). По содержанию белка все образцы относились к группе со средним его содержанием в зерне. Низкое содержание белка отмечено у двух сортов: Злата – 7,9 и Марс – 7,3 %.

В ходе гибридизации белозерных и цветных сортов риса получены поколения F_1 , F_2 , F_3 . Стекловидность зерна у растений всех гибридных комбинаций находилась в пределах 53–91 %. Проведена генетическая стабилизация гибридов F_1 методом культуры пыльников, созданы константные регенерантные линии. В ходе беккроссирования на основе гибридов F_1 получены BC_1 , BC_2 и BC_3 – поколения. По результатам изучения технологических признаков качества зерна выделено 48 образцов BC_2 . По признаку «содержание амилозы» в зерне образцы риса разделены на четыре группы: глютинозные, низкоамилозные, умеренно высокоамилозные, высокоамилозные.

Для изучаемых образцов получены высокомолекулярные препараты суммарной ДНК без признаков деградации и ДНК библиотеки с использованием NEBNext® Ultra™ II FS DNA Library Prep Kit. Все ДНК-библиотеки имели фрагменты ожидаемого размера (400–600 п.н.). При анализе качества ДНК библиотек установлено, что их концентрация составляет 4,72 нг в мкл, что достаточно для проведения полногеномного секвенирования с помощью технологии Illumina Novaseq 6000 с использованием ячейки S1. Проведено секвенирование библиотек ДНК 49 образцов риса. В результате получено от 3,2 до 24,6 Gb данных на образец, что соответствует глубине секвенирования от 8,6X до 65,9X, средняя глубина прочтения составляла 22,4X в расчете на референсный геном риса сорта Nipponbare. Полученные полногеномные данные для сортов российской селекции и селекционно-ценных линий риса позволят на следующем этапе работы провести биоинформатический анализ и отобрать кандидатные маркеры для бекграундной селекции, а использование в анализе контрастных по фенотипу форм даст возможность в дальнейшем выявить геномные варианты, ассоциированные с различными фенотипическими проявлениями целевых признаков.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (РНФ) № 22-16-20015 «Инновационная селекционная технология для создания сортов риса с высоким пищевым качеством зерна»
<https://rscf.ru/project/№22-16-20015>



Уважаемые коллеги!
Дорогие друзья!

Мы выражаем большую и искреннюю благодарность всем участникам XI международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика» за ваш труд в определении основных проблем в области биотехнологии и выявлении тенденций развития в данной области, за обмен достижениями биотехнологии и обсуждение путей оптимизации образовательного процесса студентов-биотехнологов. Желаем вам творческих успехов, больших научных достижений и побед!

До новых встреч!

С уважением, оргкомитет.

Организаторы:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Воронежский государственный университет инженерных технологий»,
Научно-образовательный центр «НаноБиоТех»,
ООО «Вега-Эко»,
ООО «Биоактуаль»

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ
журнала «*Актуальная биотехнология*»

Приглашает к публикации студентов, аспирантов и научных работников по следующим тематикам:

- *Актуальные вопросы современной биотехнологии*
- *Биоинженерия и биоинформатика*
- *Экология и ресурсосбережение*
- *Биоэнергетика, пищевая биотехнология, биохимия, биогеотехнология*
- *Сельскохозяйственная и лесная биотехнология*
- *Биофармацевтика и биомедицина*

Требования к оформлению статей

1. Материалы представляются в двух видах: на электронном носителе и распечатанные на одной стороне листа белой бумаги формата А4 (1 экз.) на лазерном принтере. Они должны быть набраны в редакторе MSWord версия не ниже 6.0 (Office не выше 2007) и напечатаны через одинарный интервал в две колонки шрифтом:

- основной текст –TimesNewRomanCyr 11 с полями: левое 22 мм, правое 18 мм, верхнее и нижнее 25 мм;
- колонтитулы от края – верхний и нижний 18 мм;
- заголовки по центру –TimesNewRomanCyr 11, жирный;
- красная строка -1 см;
- перенос слов – автоматический.

Со смещением на 5 см от рамки текста в начале статьи набираются:

- УДК– Times New Roman Cyr 12;
- должность, степень И. О. Ф. авторов –TimesNewRomanCyr 12;
- название статьи –TimesNewRomanCyr 16, жирный, строчной (без переноса);
- аннотации– Times New Roman Cyr 9;
- ключевые слова – TimesNewRomanCyr 9, до 10 слов;

2. Объем для статьи – 3-8 с. Структурно статья должна иметь четко выраженное *введение*, в котором ставится задача (описывается решаемая проблема), *основную часть*, где излагаются используемые авторами пути решения поставленной задачи, приводятся и обсуждаются результаты, и *заключение*, в сжатой форме подводящее итог работы. Повторение одних и тех же данных в статье, таблице и графике не допускается. Размерность всех характеристик приводится в системе СИ.

3. К каждой статье под заглавием дается аннотация (объем до 600 печатных знаков) на русском и английском языках через 1 строку друг от друга. Название статьи, фамилия и инициалы приводятся отдельно на английском языке.

4. Название статьи или краткого сообщения должно быть лаконичным и точно отражать содержание.

5. Иллюстрации в формате jpeg или gif:

должны быть расположены после ссылки на них в тексте;

должны выполняться на компьютере с обозначением всех необходимых букв и символов в соответствии с ЕСКД и Р 50-77-80. Все буквенные и цифровые обозначения, приведенные на рисунках, поясняются в основном или подрисункном тексте. Подрисункные подписи даются TimesNewCyr 10, на формат рисунка.

Графические объекты (диаграммы, графики) должны быть активными (т.е. подлежать редактированию стандартными средствами, например, MSExcel).

6. Формулы и буквенные обозначения:

- × буквы латинского алфавита, используемые в индексах, набирают курсивом;
- × буквы русского и греческого алфавита – прямым шрифтом; знак вектора – полужирным;
- × нумерация формул в тексте сквозная. Нумеруются только те формулы, на которые есть ссылки в тексте.

Формат формул (стандартный редактор) :

× стиль –«математический»;

× размер символа —11

Sizes (Размеры)	
Full (Обычный)	11 – 10
Subscript/Superscript(Крупныйиндекс)	7
Sub-subscript/Superscript (Мелкийиндекс)	5
Symbol (Крупный символ)	12
Subsymbol (Мелкий символ)	9

7. Таблицы (слово печатается вразрядку) должны быть с заголовками и обязательно располагаться после ссылки на них в тексте. Графы в таблицах должны иметь краткие заголовки. Упоминаемые в заголовках величины сопровождаются соответствующими единицами измерений.

8. Литература (слово печатается:TimesNewRomanCyr 11, жирный, прописной) включает источники, использованные автором при написании статьи, и должна содержать не более 10 наименований. Ссылки в тексте даются в квадратных скобках: [1], помещаются в конце статьи и оформляются согласно ГОСТ 7.1-2003.

В журнале публикуются оригинальные научные статьи теоретического и экспериментального характера. Автор указывает рубрику (в сопроводительном письме), в которой он хотел бы разместить свою статью:

Статья должна быть тщательно проверена и подписана всеми авторами.

На отдельном листе авторы указывают название статьи на русском и английском языке, ФИО полностью, адрес, ученую степень, должность, место работы, контактный телефон, e-mail, а также отмечают автора для переписки.

К статье должны прилагаться сопроводительные документы:

- сопроводительное письмо;
- выписка из протокола заседания кафедры (лаборатории) с рекомендацией статьи к печати;
- положительная рецензия ведущего ученого в данной области или члена редакционной коллегии, заверенная подписью и печатью.

•