

16+

ISSN 2304-4691

# Актуальная биотехнология



№3

2023

**ISSN 2304-4691**

**Основан в 2012г.  
г. Воронеж**

# **Актуальная биотехнология**

**№ 3**

**2023**

**16+**

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](http://www.actbio-vsuet.ru)

Подписной индекс издания в агентстве "Роспечать" 58012

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

---

---

Сдано в набор 06.11.2023. Подписано в печать 13.11.2023

Выход в свет: 25.11.2023

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»**

РАСШИРЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СПЕКТРА <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ЗА СЧЕТ МОДИФИКАЦИИ ПУТИ БИОСИНТЕЗА ТЕРПЕНОВ <b>Т.А. Болотникова, К.В. Воробьев</b> .....	6
ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИЕ СОЛЕТОЛЕРАНТНЫЕ БАКТЕРИИ ДЛЯ КУЛЬТУРЫ СОИ <b>И.Э. Смирнова, А.К. Саданов, Г.Б. Баймаханова, Э.Р. Файзулина, Л.Г. Татаркина</b> .....	7
ИЗМЕНЕНИЕ РЕЖИМА АВТОКОЛЕБАНИЙ ТРАНСПОРТА ВОДЫ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ ПРИ БЛОКИРОВАНИИ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ <b>Н.В. Будаговская</b> .....	11
ПОДБОР МИКРОБНОЙ КОМПОЗИЦИИ ЗАКВАСКИ С УЛУЧШЕННЫМИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ХЛЕБА <b>Г.С. Волкова, Е.В. Куксова, А.А. Толокнова, Н.А. Фурсова</b> .....	13
ВЛИЯНИЕ ЛЬЯНОЙ МУКИ НА РЕОЛОГИЮ ТЕСТА ИЗ КОМПОЗИТНЫХ СМЕСЕЙ <b>Н.А. Ревякина, Н.В. Сокол</b> .....	14
ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СДОБНЫХ БУЛОЧЕК В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ <b>М.Б. Хоконова, С.Г. Безирова</b> .....	15
РАЗРАБОТКА ВКУСОВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ <b>М.Б. Хоконова, М.А. Ахметова</b> .....	16
ПРИМЕНЕНИЕ ВОДНЫХ БИОРЕСУРСОВ ДЛЯ ОБОГАЩЕНИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ НАПИТКОВ <b>Е.В. Богданова, Я.М. Рудова</b> .....	17
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОМ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ В СЫРОМ МОЛОКЕ <b>М.Ю. Сыромятников, Е.Ю. Нестерова, М.И. Гладких</b> .....	18
ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ШИШКАХ И ЛИСТЬЯХ <i>NUMULUS LUPULUS L.</i> ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ОБРАБОТКИ <b>Д. Аль Хуссейн, Е. Алмуграби, А.А. Мостякова, Тимофеева О.А.</b> .....	19
БИОТЕХНОЛОГИЯ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ НА ОСНОВЕ ТВОРОЖНОЙ СЫВОРОТКИ <b>О.В. Бондарева, Г.П. Шуваева, О.С. Корнеева</b> .....	20
ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЛИПАЗЫ LIPA ПУТЕМ ВНЕСЕНИЯ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ НА ОСНОВЕ РАСЧЕТОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ <b>Д.А. Черенков<sup>1</sup>, А.А. Толкачёва<sup>1</sup>, М. С. Кондратьев<sup>2</sup>, М.Г. Шарапов<sup>2</sup>, Н.В. Пеньков<sup>2</sup></b> .....	21
ЗНАЧЕНИЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И КОЛЛАГЕНА В ЗАЖИВЛЕНИИ РАН И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ СРЕДСТВАХ <b>А.Р. Арзуманова<sup>1</sup>, А.С. Рябова<sup>1</sup>, О.В. Лепехина<sup>1</sup>, С.А. Попович<sup>1</sup>, А.А. Толкачева<sup>1</sup>, А.В. Соколова<sup>1</sup>, Н.А. Дронов<sup>2</sup>, М.В. Аралова<sup>2</sup>, Д.А. Черенков<sup>1</sup></b> .....	22
ПРИМЕНЕНИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В КОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ АССОЦИАЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКИ ИНДЕКСА БПК И ТОКСИЧНОСТИ ПРИРОДНЫХ ВОД <b>А.С. Харьковца</b> .....	23
СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ <b>Е.А. Бунеева<sup>1</sup>, Д.А. Черенков<sup>1</sup>, А.А. Толкачёва<sup>1</sup>, О.В. Бондарева<sup>1</sup>, Е.Г. Абрамова<sup>1</sup>, А.С. Вострикова<sup>1</sup>, Е.С. Шибкова<sup>2</sup>, С.У. Собилов<sup>2</sup>, Т.В. Лыкова<sup>2</sup>, С.В. Кирьянова<sup>2</sup>, М.М. Гапьяк<sup>2</sup></b> .....	24
ПОДБОР ПАРАМЕТРОВ БИОРАЗЛОЖЕНИЯ БАЛЛАСТНЫХ ВЕЩЕСТВ КОНОПЛЯНОГО ШРОТА <b>Л.И. Василенко, А.С. Злобина, И.А. Москвитина, Е.А. Мотина</b> .....	25
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ РЕНАТУРАТА ИНТЕРФЕРОНА альфа-2b ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО РЕКОМБИНАНТНОГО <b>Е.А. Пименова, Е.А. Мотина, В.В. Кутузова, С.Ф. Яковлева</b> .....	26
РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ДЕГРАДАЦИИ ХИТОЗАНА <b>С.Ф. Яковлева, Е.А. Мотина, Н.А. Матвиенко</b> .....	27
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ КАЛЬЦИЯ <b>Е.А. Сизова<sup>1,2</sup>, Т.Н. Холодильникова<sup>1,2</sup>, К.А. Казаев<sup>1</sup>, А.С. Мустафина<sup>1</sup></b> .....	28
НОВЫЙ ПЛАВЛЕННЫЙ СЫР «СЫРМЕ» <b>О.Н. Мусина<sup>1,2</sup>, Е.М. Нагорных<sup>1</sup>, Н.И. Бондаренко<sup>2</sup></b> .....	32
СУММАРНОЕ СОДЕРЖАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ ЛИСТЬЕВ ОБЛЕПИХИ И СМОРОДИНЫ <b>Э.В. Сынгеева, Г.П. Ламажапова, Б.Ж. Ламаханова, А.А. Шенаршеева</b> .....	33
ИЗУЧЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ РЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ГРУНТА <b>А.А. Худокормов, Е.В. Моисеева, А.А. Самков, Н.Н. Волченко</b> .....	34
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ КИШЕЧНЫХ БАКТЕРИЙ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ В ЖИДКОМ АЗОТЕ <b>Л.В. Заломова, Е.Е. Фесенко</b> .....	35

---

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЮПИНА В СОСТАВЕ КОМБИКОРМОВ С.Ф. Яковлева, Е.А. Могина, А.Н. Яковлев .....	36
СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ А.А. Досаев, Н.В. Меньшутина.....	37
ПОГЛОЩЕНИЕ ВОДЫ ХЕМОСОРБЦИОННЫМИ ВОЛОКНАМИ В РАЗЛИЧНЫХ ИОННЫХ ФОРМАХ А.В. Астапов <sup>1</sup> , О.И. Долматова <sup>2</sup> , Н.А. Попов <sup>1</sup> .....	38
ДНК-ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПТИЦ Л.Г. Коршунова, Е.И. Куликов, А.К. Кравченко, А.С. Комарчев, Р.В. Карапетян .....	39
БИОТЕХНОЛОГИЯ КИСЛО-СЛИВОЧНОГО МАСЛА «ЗАКУСОЧНОЕ» О.И. Долматова <sup>1</sup> , А.В. Астапов <sup>2</sup> .....	40
АНТИКОАГУЛЯНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ РОДА FILIPENDULA Е.В. Соколова, Т.А. Кроль, Ю.М. Минязева, Е.Р. Никонорова .....	41
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (QUERCUS ROBUR L.) НА МОРФОГЕНЕЗ В КУЛЬТУРУ IN VITRO А.А. Тимаков, Р.В. Сергеев, А.Р. Хусаннова, В.А. Шургин, С.Е. Смирнова.....	42
ВЛИЯНИЕ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПОЧВ Г. КОГАЛЫМА НА РОСТОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОДНОДОЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ А.С. Коробейникова, Е.П. Венедюхина, Д.М. Голубев, Е.В. Глинская.....	43
БИОДЕГРАДАЦИОННАЯ СТРАТЕГИЯ ГРИБА БЕЛОЙ ГНИЛИ TRAMETES HIRSUTA 072 В ОТНОШЕНИИ ЭНДОКРИННЫХ РАЗРУШИТЕЛЕЙ – ЭФИРОВ ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ Т.В. Фёдорова, А.В. Шабаев.....	44
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА РЕКОМБИНАНТНОЙ МУТАНТНОЙ TAQ ПОЛИМЕРАЗЫ П.В. Колосов <sup>1</sup> , Д.Н. Щербаков <sup>2</sup> .....	48
РАЗРАБОТКА МИЦЕЛИАЛЬНО-УГОЛЬНЫХ КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ГРИБА БЕЛОЙ ГНИЛИ TRAMETES HIRSUTA ДЛЯ АКВАРЕМЕДИАЦИИ О.А. Глазунова, К.В. Моисеенко, Т.В. Федорова.....	51
ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ БИОГЕННЫХ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ М.А. Купряшина, Е.Г. Пономарева, Е.П. Ветчинкина, А.С. Чернова.....	52

УДК 608.2

**РАСШИРЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СПЕКТРА SACCHAROMYCES CEREVISIAE  
ЗА СЧЕТ МОДИФИКАЦИИ ПУТИ БИОСИНТЕЗА ТЕРПЕНОВ****Т.А. Болотникова, К.В. Воробьев***Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия*

Современное динамичное развитие отраслевых промышленных биотехнологий невозможно представить без инструментария синтетической биологии. Метаболически сконструированные дрожжевые платформы обеспечивают устойчивое безопасное и рентабельное получение целевых продуктов, зачастую выступая заменой методам химического синтеза.

Терпены – широко представленный в растительных клетках класс производных изопрена. Являясь как первичными, так и вторичными метаболитами растений, терпены обладают множеством функций от переноса электронов, гликозидов, гормонов и факторов роста до токсичного влияния на травоядных животных и вредителей [1]. Так, монотерпены являются основными ароматическими компонентами эфирных растительных масел, биологическая активность которых далеко не ограничивается противомикробными, противоопухолевыми, анестезирующими и седативными свойствами, а производственное получение – пищевыми и химическими технологиями [2].

Органолептические свойства хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus L.*) – незаменимого компонента сырьевой базы в пивоваренной индустрии – определяет основной монотерпен  $\beta$ -мирцен [3]. У дрожжей монотерпены являются интермедиатами мевалонатного пути, необходимого для получения стерина, тесно связанного с клеточным ростом. Согласно литературным данным, ферменты, катализирующие образование  $\beta$ -мирцена, в дрожжевых клетках не выявлены [4]. Остаточные следы  $\beta$ -мирцена обнаружены лишь при спиртовом брожении дрожжей *Torulasporea delbrueckii* (*Saccharomyces rosei* или *Saccharomyces delbrueckii*), что предполагает существование неспецифических клеточных ферментов (геранилдифосфатсинтаз) [5].

Нативный бифункциональный фермент, катализирующий дегидратацию линалоола до  $\beta$ -мирцена, изучен у бетапротеобактерии *Castellaniella defragrans* 65Phen. Линалоолдегидратаза (EC 4.2.1.127) представлена в виде гомопентамерного белкового комплекса с последовательностью в 397 а.о. Гены *geoB* (1436 п.н.), *geoA* (1121 п.н.) и *ldi* (1193 п.н.) расположены в локусе FR669447 [6].

Направленный поиск аналогичных последовательностей пар нуклеотидов в клетках дрожжей *Torulasporea delbrueckii* и их дальнейший трансгенез позволят создать пивной штамм *Saccharomyces cerevisiae*, продуцирующий  $\beta$ -мирцен при спиртовом брожении.

**Литература**

1. Towards synthesis of monoterpenes and derivatives using synthetic biology. / Z. Zebec, J. Wilkes, A.J. Jervis, N.S. Scrutton [et al.]. – DOI: 10.1016/j.cbpa.2016.06.002 // Current Opinion in Chemical Biology. – 2016. – Vol. 34. – p. 37–43.
2. Natural products as biofuels and bio-based chemicals: fatty acids and isoprenoids. / H.R. Beller, T.S. Lee, L. Katz. – DOI: 10.1039/C5NP00068H // Natural Product Reports. – 2015. – Vol. 32. – p. 1508–1526.
3. Changes in Hop (*Humulus lupulus L.*) Oil Content and Composition during Long-Term Storage under Different Conditions / K. Rutnik, M. Ocvirk, J. Košir. – DOI: 10.3390/foods11193089 // Foods. – 2022. – Vol. 11, № 3089. – 20 P.
4. Alpha-Terpeneol production from an engineered *Saccharomyces cerevisiae* cell factory/ F.M. Carrau, K. Medina, E. Boido, L. Farina [et al.]. – DOI: 10.1186/s12934-019-1211-0 // Microbial Cell Factories. – 2019. – Vol. 18, №. 160. – p. 107–115.
5. Formation of terpenes by yeasts during alcoholic fermentation. / R. Hock, I. Benda, P. Schreier. – DOI: 10.1007/BF01043423 // Z Lebensm Unters Forch. – 1984. – Vol. 179. – p. 450–452.
6. X-ray structure of linalool dehydratase/isomerase from *Castellaniella defragrans* reveals enzymatic alkene synthesis / S. Weidenweber, R. Marmulla, U. Ermler, J. Harder. – DOI: 10.1002/1873-3468.12165 // FEBS Letters. – 2016. – Vol. 590, Issue 9. – p. 1375–1383.

УДК 579.647

**ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИЕ СОЛЕТОЛЕРАНТНЫЕ БАКТЕРИИ ДЛЯ КУЛЬТУРЫ СОИ****И.Э. Смирнова, А.К. Саданов, Г.Б. Баймаханова, Э.Р. Файзулина, Л.Г. Татаркина**

ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», Алматы, Казахстан

**Введение**

Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) является важной, широко выращиваемой бобовой культурой в мире, спрос на ее зерно ежегодно растет. В семенах сои содержится до 36 % белка и до 19 % масла. Поэтому, соя применяется в качестве пищи для человека, кормов для животных, масла и промышленных продуктов [1]. Изменения климата в следствие глобальное потепления, приводит к увеличению испарения воды из почвы, дефициту пресной воды и использованию соленой воды для орошения, все эти процессы вызывают усиленное засоление почв [2–4]. Из-за засоленности почв происходит сокращение сельскохозяйственных угодий, пригодных для выращивания культур, в частности, сои [5]. Соя не солеустойчивая культура, засоленные почвы являются для нее сильным абиотическим стрессом, и выращивание культуры на таких почвах приводит к потере до 50 % ее урожайности. Рядом авторов показано, одной из причин снижения ее продуктивности на засоленных почвах, является уменьшение доступности одного из основных питательных элементов растений – фосфора [6–8]. Установлено, что на засоленных почвах гораздо быстрее появляются симптомы дефицита фосфора у растений (замедление роста, появление пурпурных оттенков на темно-зеленых листьях, прожилках и стеблях, преждевременное увядание листьев), чем на незасоленных почвах [9, 10]. Поэтому для снижения дефицита фосфора, на засоленных почвах вносят повышенные дозы фосфорных удобрений. Однако их высокая стоимость и угроза для окружающей среды (загрязнение воды, почвы и др.) мотивируют к поиску альтернативных путей, при которых естественные источники фосфора будут служить его резервуаром [11].

Альтернативой фосфорным удобрениям является использование фосфатмобилизующих микроорганизмов. Эти микроорганизмы, присутствуют в ризосфере растений и способны переводить нерастворимые фосфаты в доступную растениям форму, и тем самым, улучшать их фосфорное питание и способствовать росту [12]. Также, фосфор крайне важен для симбиотических азотфиксаторов сои – клубеньковых бактерий. При дефиците фосфора клубеньковые бактерии не могут образовывать клубеньки на корнях сои, активно фиксировать азот и снабжать биоазотом растения [13]. То есть, применение фосфатмобилизующих бактерий способствует улучшению не только фосфорного, но и азотного питания сои. Поэтому, поиск микробных инокулянтов для повышения доступности фосфора является весьма актуальным. Однако не все фосфатмобилизующие микроорганизмы могут активно расти и мобилизовать соединения фосфора на засоленных почвах. Большинство из них обладают низкой устойчивостью к засолению и не подходят в качестве инокулянтов для применения на засоленной почве [14].

Цель работы – выделение солетолерантных фосфатмобилизующих бактерий из ризосферы растений сои, растущих на засоленных почвах, изучение их солеустойчивости, способности к мобилизации фосфатов и влияния на рост сои на засоленных почвах. Применение солетолерантных фосфатмобилизующих бактерий является эффективной, экологически чистой и экономически выгодной заменой фосфорным удобрениям.

**Материалы и методы**

Ризосферную почву отбирали на расстоянии 5–8 см от корней растений сои сорта «Эврика», растущих на засоленном поле в Алматинской области Казахстана (№ 40°50.120; E 68°29.165, 265 м над уровнем моря) в фазу цветения сои. Тип почвы – серозем обыкновенный, общее содержание солей в водной вытяжке  $1,051 \pm 0,06$  %, значение pH  $9,3 \pm 0,02$ , что свидетельствует о высокой засоленности почвы. Выделение фосфатмобилизующих бактерий проводили на селективной среде NBRIP [15] с добавлением 10 % NaCl.

Солеустойчивость бактерий определяли в жидкой среде с NBRIP, содержащей 100, 250 и 500 мМ NaCl. Бактерии выращивали 3 суток при 28 °C и 180 об/мин. Рост бактерий определяли на спектрофотометре (PD-303, “Apeel”, Japan) при 540 нм. Оценку роста бактерий проводили по шкале, где – отсутствие роста, + наличие роста, добавление + указывает на интенсивность роста. Исследование проводили в пятикратной повторности.

Идентификацию бактерий проводили молекулярно-генетическим методом Сенгера, путем секвенирования 16S rRNA гена и сравнения нуклеотидных последовательностей гена 16S rRNA со штаммами из базы данных GenBank NCBI.

Для изучения влияния фосфатмобилизующих бактерий на рост сои в условиях засоления почвы, семена сои были стерилизованы 1 % раствором гипохлорита натрия (об./об.) в течение 5 мин и 70 % раствором этанола (об./об.) погружением на 1 мин. Затем семена ополаскивали стерильной водой 5–7 раз [16]. Стерилизованные семена были инокулированы суспензией бактерий с титром  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл в течение 2 часов при температуре 23° С, из расчета 5 мл суспензии на 1 г семян. Далее семена были посеяны в сосуды на 5000 мл с засоленной почвой по 3 растений на сосуд. Тип почвы – серозем обыкновенный, содержание гумуса 0,86 %, легкогидролизуемого азота – 58,6 мг/кг, подвижного фосфора – 24,8 мг/кг и подвижного калия – 468,7 мг/кг. Общее содержание солей 1,058 %, значение рН 9,2. Через 3 месяца растения убирали, подсчитывали количество клубеньков, высушивали клубеньки, корни, стебли и литья до постоянного веса и определяли их сухую массу. Опыты проводили в климатической камере (Memmert HPP 750 Constant Climate Chamber, Германия). Световой день – 9 ч, температура 25 °С, освещенность: холодный белый свет – 6500 К, теплый свет 2700 К; ночной режим – 15 ч; температура 18 °С, влажность – 68 %. Исследования проводили в пятикратной повторности.

Статистическую значимость полученных результатов анализировали с использованием пакета программ STATISTICA 10.0, ver. 6.0 [17]. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ , а значения представлены как среднее значение (M) ± стандартное отклонение (±SEM) [18].

### Результаты и обсуждение

Для выделения фосфатмобилизующих солеустойчивых бактерий из ризосферы здоровых растений сои, растущих на засоленных почвах, было собрано 56 образцов почв. При высеве на среду NBRIP, содержащую трикальцийфосфат и 10 % NaCl, были отобраны колонии, демонстрирующие четкие зоны мобилизации фосфатов (зоны гало). В результате проведенной работы было выделено 32 изолята солеустойчивых фосфатмобилизующих бактерий. Первичный скрининг бактерий по признаку солеустойчивости позволил отобрать 12 изолятов, которые образовывали наибольшую зону мобилизации фосфатов за меньший промежуток времени.

Далее провели исследование устойчивости изолятов к солевому стрессу при разных концентрациях NaCl (100, 250 и 500 mM) в среде культивирования бактерий. В таблице 1 приведены данные 12 наиболее солеустойчивых изолятов.

Таблица 1 – Изучение солеустойчивости фосфатмобилизующих бактерий

Изоляты	Концентрация NaCl, mM		
	100	250	500
ФТ-1	++	+	-
ФТ-2	++++	+++	++
ФТ-15	++	+	-
ФТ-4	+++	+++	++
ФМ-9	++++	+++	++
ФМ-12	++++	+++	+++
ФЛ-27	++	+	-
ФУ-36	+++	+	-
ФС-11	++++	+++	+++
ФТ-34	++	+	-
ФМ-22	+++	+	-
ФМ-19	+++	+	-

Примечание: – указывает на отсутствие роста; + указывает на наличие роста; дополнительный + указывает на интенсивность роста

Из данных таблицы 1 следует, что не все выделенные изоляты обладали высокой солеустойчивостью. Так, если при концентрации NaCl в среде 100 mM росли все изоляты, то при концентрации 500 mM NaCl только пять ФТ-2, ФТ-4, ФМ-9, ФМ-12, ФС-11. Эти пять изолятов были отобраны для дальнейшей работы как наиболее солеустойчивые.

Изучение фосфатмобилизующей способности отобранных изолятов при солевом стрессе различной степени проводили на среде NBRIP с разными концентрациями NaCl 100, 250 и 500 mM. В качестве контроля использовали среду без добавления NaCl (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние солевого стресса на фосфатмобилизующую активность бактерий

Изоляты	Концентрация NaCl, mM			
	0	100	250	500
	Диаметр зоны мобилизации фосфатов, мм			
ФТ-2	32,6±0,2	31,4±0,3	21,9±0,1	15,8±0,2
ФТ-4	37,4±0,1	33,4±0,2	28,4±0,3	26,9±0,1
ФМ-9	32,9±0,4	28,9±0,1	22,9±0,1	15,9±0,1
ФМ-12	36,2±0,2	30,2±0,4	26,8±0,2	24,8±0,1
ФС-11	36,2±0,2	32,5±0,2	27,7±0,2	25,7±0,2

Примечание:  $p < 0,05$ ;  $n=5$

Из данных таблицы 2 следует, что бактерии обладали способностью к мобилизации фосфатов в условиях солевого стресса. При концентрации соли в среде 100 mM все изоляты характеризовались высокой мобилизацией фосфатов, зоны растворения фосфатов составляли 28,9–33,4 мм. Установлено, что с увеличением концентрации активность сольобилизации снижалась. Так, при высоком солевом стрессе (500 mM NaCl) у двух изолятов ФТ-2, ФМ-9 потенциал сольобилизации фосфатов снизился значительно на 52–53 % по сравнению с контролем (без внесения NaCl). Однако у изолятов ФТ-4, ФМ-12 и ФС-11 солевой стресс не оказывал такого сильного воздействия и активность мобилизации снизилась при этой же концентрации NaCl в среде всего на 28–30 %. Эти штаммы были отобраны как лучшие.

Проведена идентификация изолятов ФТ-4, ФМ-12, ФС-11 молекулярно-генетическим методом Сенгера. Показано, что фосфатмобилизующие солеустойчивые бактерии принадлежат к родам *Pseudomonas* и *Bacillus*, штамм ФТ-4 относится к *Pseudomonas koreensis*, а штаммы ФМ-12 и ФС-11 – к *Bacillus pumilus* ФМ-12 и *Bacillus sp.* ФС-11.

Исследование влияния инокуляции фосфатмобилизующими солетолерантными бактериями на рост сои и образование клубеньков в условиях солевого стресса проводили на сильнозасоленной почве. Для инокуляции семян использовали штаммы ФТ-4, ФМ-12 и ФС-11, контролем служили семена без инокуляции. Полученные результаты представлены в рисунке 1.

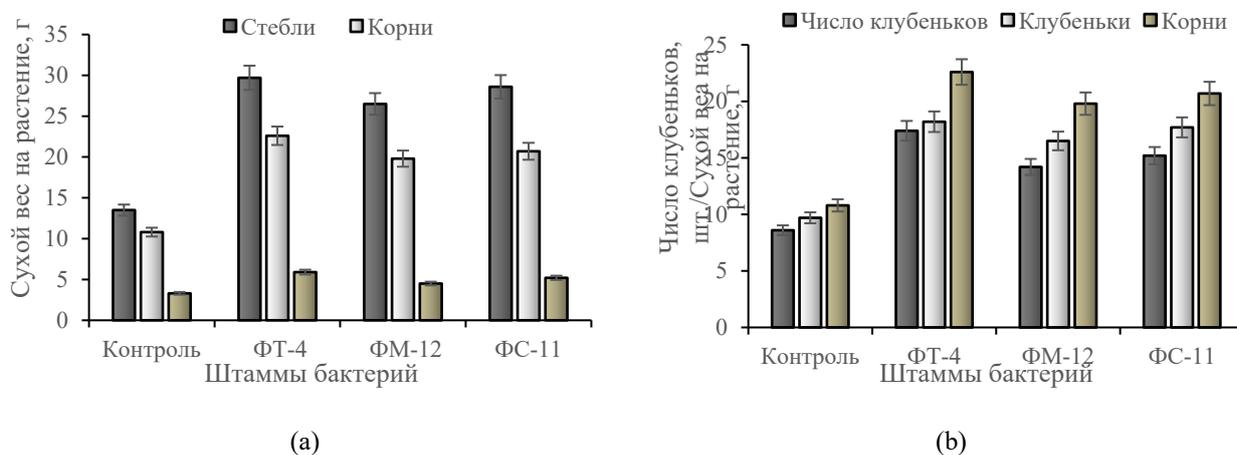


Рис. 1. Влияние инокуляции бактериями на стебли, корни и листья (а), число и вес клубеньков (б) при росте сои на сильнозасоленной почве ( $p < 0,05$ ;  $n=5$ ).

Из данных рисунка 1 следует, что инокуляция солетолерантными фосфатмобилизующими бактериями существенно смягчала солевой стресс растений сои. Показано, что ростовые параметры инокулированной сои при выращивании на сильнозасоленной почве значительно увеличились по сравнению с контролем (без инокуляции). Так, сухой вес стеблей сои увеличился в 2,0–2,2 раза, листьев в 2,5–3,5 раза, а число клубеньков на одно растение увеличилось в среднем 1,7–2,0 раза на одно растение (рисунок 1а). Также, установлено, что сухая масса корней и самих клубеньков существенно повысилась по сравнению с контролем, корней в 1,9–2,1 раза и клубеньков в 1,7–1,9 раза (рисунок 1б). Наибольший положительный эффект на растения сои оказала инокуляция штаммом *Ps. koreensis* FT4.

В этом варианте отмечали самое большое количество клубеньков на одно растение – 17,4 штук, в контроле этот показатель составлял всего 8,6 клубеньков на растение.

### **Заключение**

Таким образом, показано, что инокуляция семян сои фосфатмобилизирующими солетолерантными бактериями смягчает солевой стресс, улучшает рост растений сои и способствуют экологической адаптации сои к засолению. Стимуляция роста у инокулированных растений, подтверждается увеличением числа клубеньков, сухого веса стеблей, корней и листьев растений сои. Наши результаты показали, что выделенные бактерии обладают большим потенциалом для поддержания растений сои в стрессовых условиях на засоленных почвах. После оценки штаммов в полевых условиях, бактерии могут быть использованы в коммерческих целях для частичной или полной замены дорогостоящих фосфорных удобрений. Дальнейшие исследования фосфатмобилизирующих солетолерантных культур представляются очень интересными и важными.

**Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант AP09259080).**

### **Литература**

1. Hlangumaran G., Schwinghamer T.D., Smith D.L. Rhizobacteria from root nodules of an indigenous legume enhance salinity stress tolerance in soybean // *Frontiers in Sustainable Food Systems*. – 2021. – Vol. 4. – e617978. DOI: 10.3389/fsufs.2020.617978.
2. Ullah A. et al. change and salinity effects on crops and chemical communication between plants and plant growth-promoting microorganisms under stress // *Frontiers in Sustainable Food Systems*. – 2021. – Vol. 5. – e618092. DOI: 10.3389/fsufs.2021.618092.
3. Mohanavelu A., et al. Irrigation Induced Salinity and Sodicity Hazards on Soil and Groundwater: An Overview of Its Causes, Impacts and Mitigation Strategies // *Agriculture*. – 2021. – Vol. 11. – P. 983. <https://doi.org/10.3390/agriculture11100983>.
4. Singh A. Soil salinity: A global threat to sustainable development // *Soil Use and Management*. – 2021. – Vol. 38(3). – P. 39–67. doi:10.1111/sum.12772.
5. Dewi E.S., Abdulai I., Bracho-Mujica G., Rötter R.P. Salinity Constraints for Small-Scale Agriculture and Impact on Adaptation in North Aceh, Indonesia // *Agronomy*. – 2022. – Vol. 12(2). – P. 341. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020341>.
6. Dey G. et al. Management of Phosphorus in salinity-stressed agriculture for sustainable crop production by salt-tolerant phosphate-solubilizing bacteria // *Agronomy*. – 2021. – Vol. 11. – P. 1552. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081552>.
7. Xie W., Yang J., Gao S., Yao R., Wang X. The Effect and Influence Mechanism of Soil Salinity on Phosphorus Availability in Coastal Salt-Affected Soils // *Water*. – 2022. – Vol. 14. – P. 2804. <https://doi.org/10.3390/w14182804>.
8. Penn C.J., Camberato J.J. A Critical Review on Soil Chemical Processes that Control How Soil pH Affects Phosphorus Availability to Plants // *Agriculture*. – 2019. – Vol. 9(6). – P. 120. <https://doi.org/10.3390/agriculture9060120>.
9. Tang H. et al. Phosphorus Limitation Improved Salt Tolerance in Maize Through Tissue Mass Density Increase, Osmolytes Accumulation, and Na<sup>+</sup> Uptake Inhibition // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – Vol. 10. – P. 856. doi: 10.3389/fpls.2019.00856.
10. Isidra-Arellano M.C. et al. Phosphate Deficiency Negatively Affects Early Steps of the Symbiosis between Common Bean and Rhizobia // *Genes (Basel)*. – 2018. – Vol. 9(10). – P. 498. doi: 10.3390/genes9100498.
11. Ali W., Nadeem M., Ashiq W. The effects of organic and inorganic phosphorus amendments on the biochemical attributes and active microbial population of agriculture podzols following silage corn cultivation in boreal climate // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9. – e7297. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53906-8>.
12. Timofeeva A., Galyamova M., Sedykh S. Prospects for Using Phosphate-Solubilizing Microorganisms as Natural Fertilizers in Agriculture // *Plants*. – 2022. – Vol. 11. – P. 2119. <https://doi.org/10.3390/plants11162119>.
13. Li H., Wang X., Liang Q., Lyu X. et al. Regulation of Phosphorus Supply on Nodulation and Nitrogen Fixation in Soybean Plants with Dual-Root Systems // *Agronomy*. – 2021. – Vol. 11. – P. 2354. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112354>.
14. Joshi G., Kumar V., Brahmachari S.K. Screening and identification of novel halotolerant bacterial strains and assessment for insoluble phosphate solubilization and IAA production // *Bulletin of the National Research Centre*. – 2021. – Vol. 45. – P. 83. <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00545-7>.
15. Mohamed A.E. Isolation and selection of highly effective phosphate solubilizing bacterial strains to promote wheat growth in Egyptian calcareous soils // *Bulletin of the National Research Centre*. – 2019. – Vol. 43(1). P. 203. DOI:10.1186/s42269-019-0212-9.
16. Lindsey B.E. 3rd, Rivero L., Calhoun C.S., Grotewold E., Brkljacic J. Standardized Method for High-throughput Sterilization of Arabidopsis Seeds // *Journal of Visualized Experiments*. – 2017. – Vol. 128. – e56587. doi: 10.3791/56587.
17. Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA 10.0, ver. 6. – М.: Горячая линия-Телеком, 2016. – 288 с.
18. Gomez-de-Mariscal E. et al. Use of the p-values as a size-dependent function to address practical differences when analyzing large datasets // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – e20942. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00199-5>.

УДК 581.14

**ИЗМЕНЕНИЕ РЕЖИМА АВТОКОЛЕБАНИЙ ТРАНСПОРТА ВОДЫ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ ПРИ БЛОКИРОВАНИИ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ***Н.В. Будаговская**Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Кальциевые каналы играют важную роль в передаче сигналов в растениях [1]. Блокирование кальциевых каналов вносит нарушения в сигнальную сеть и регуляцию функциональной активности растений. Исследования действия блокаторов кальциевых каналов проводилось, в основном, на субклеточном, мембранном уровне. Менее изучено влияние блокаторов кальциевых каналов на функциональную активность целого растения или отдельных его органов. В данной работе представлены результаты экспериментов, связанных с исследованием влияния блокатора кальциевых каналов верапамила на процессы транспорта воды в корнях растений.

Объектами исследования являлись растения кукурузы гибрида Пионер. Водонагнетающую активность корней оценивали по интенсивности экссудации, которую определяли по методу Anderson и House [2] с некоторыми модификациями на изолированных корнях (пятисантиметровая апикальная часть) 6-дневных проростков, помещенных в растворы верапамила (1,0 мМ и 6,0 мМ), в контрольных вариантах использовалась водопроводная вода без добавления верапамила. Измерения проводили с интервалом в 20 мин в течение нескольких часов при 30° С, применялось термостатирование. Биологическая повторяемость опытов шестикратная.

На рис. 1 представлены типичные результаты экспериментов, характеризующие водонагнетающую активность индивидуальных корней кукурузы: в отсутствие блокатора кальциевых каналов верапамила (контроль) и при его добавлении (опытный вариант). Динамика процесса носит автоколебательный характер. В контрольном варианте хорошо выражены гармонические колебания с окологосовым периодом. В опытном варианте при добавлении верапамила колебательный режим изменяется по сравнению с контрольным вариантом: в первые 2 ч эксперимента регистрируются гармонические колебания с более высокой частотой, чем в контрольном варианте, при этом средние значения интенсивности экссудации за этот период превышают значения экссудации контрольного варианта, что может указывать на усиление водонагнетающей активности корня. Далее отмечается быстрое падение интенсивности экссудации до нулевых значений и, начиная с третьего часа эксперимента, кривая интенсивности экссудации переходит в отрицательную область координат, что означает прекращение водонагнетающей деятельности корня и самопроизвольный отток воды из корня в наружное пространство в результате вызванных верапамилем деструктивных процессов в тканях корня. Как было показано ранее в наших экспериментах, блокатор кальциевых каналов верапамил вызывает дефицит кальция и усиление процессов свободнорадикального окисления в тканях растений, следствием чего могут быть структурные нарушения мембран и корня в целом (3, 5). Этим может быть обусловлена потеря водонагнетающей активности корней и отток воды из них при увеличении времени действия верапамила. Не только длительное воздействие верапамила на корни вызывает снижение водонагнетающей активности в них, но и действие повышенных концентраций этого соединения. При концентрации верапамила 6,0 мМ отмечается лишь слабая экссудация корней в самом начале эксперимента, которая сменяется оттоком воды из них из-за нарушения целостности тканей. Отток воды из корней в данном случае начинается значительно раньше (через 1 ч эксперимента), чем при концентрации верапамила 1 мМ (через 3 ч).

Неоднозначность ответной реакции корней на действие верапамила (увеличение активности экссудации в начале эксперимента и в дальнейшем снижение ее до полной потери активности этого процесса, рис. 1) может объясняться изменением концентрации кальция в растениях в процессе эксперимента. В первые часы эксперимента вызываемые верапамилем деструктивные изменения в тканях еще не выражены, о чем свидетельствует наличие водонагнетающей активности корня. При этом небольшое снижение концентрации кальция в тканях, вызванное верапамилем, может усиливать водный транспорт в корне. Кальций участвует в регуляции проницаемости водных каналов и уменьшение его концентрации усиливает трансмембранные водные потоки [4]. Возможно, кальциевые и водные каналы функционально связаны, что обеспечивает регуляцию трансмембранного транспорта воды.

Как было показано нами ранее [5], использование верапамила в меньших концентрациях (0,25 мМ, 0,5 мМ) вызывало большее увеличение водонагнетающей активности корней (обратнопропорционально концентрации) в начале эксперимента, чем при концентрации 1,0 мМ (рис. 1). При высокой концентрации верапамила (6,0 мМ) начального всплеска активности экссудации не наблюдалось. Вероятно, это связано с концентрационными зависимостями регуляции водных потоков в корнях: вызванное верапамилем небольшое снижение концентрации кальция имело больший эффект на усиление транспорта воды в корнях, чем более значительное при повышенных концентрациях верапамила.

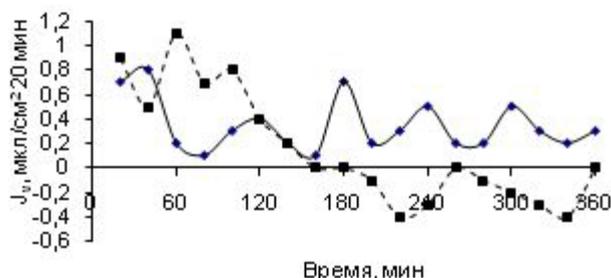


Рис. 1. Влияние верапамила (1,0 мМ) на интенсивность экссудации корней кукурузы. Сплошная линия – контроль, штриховая линия – опыт

Таким образом, блокатор кальциевых каналов верапамил, снижая проницаемость кальциевых каналов и концентрацию кальция в тканях растений, влияет на водонагнетающую активность корней. Активирующее или подавляющее действие верапамила на этот процесс зависит от используемой концентрации верапамила или от времени его действия. По-видимому, существует функциональная кооперативность между кальциевыми и водными каналами, способствующая тонкой регуляции водного транспорта в растениях. Зарегистрированы автоколебательные режимы транспорта воды в корнях растений кукурузы в отсутствие блокатора кальциевых каналов верапамила и при его воздействии на корни. Автоколебательный режим характеризует временную структурированность, упорядоченность исследуемого процесса. Изменение режима колебаний, включая изменение частот колебаний, является диагностическим показателем функциональной активности растений.

### Литература

1. White P.J. Calcium channels in higher plants // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000, 1465, p. 171–189.
2. Anderson W.P. A correlation between structure and function in the root *Zea mays* L. / W.P. Anderson, C.R. House // *J. Exp. Bot.* 1967, vol. 18, p. 544–555.
3. Будаговская Н.В. Исследование влияния антиоксиданта амбиола и блокатора кальциевых каналов верапамила на рост растений гороха и кукурузы. // В сб.: Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов, ОАО «Центрально-черноземное книжное издательство», Воронеж. 2013, с. 44–51.
4. Chaumont F. et al. Regulation of plant aquaporin activity // *Biol. Cell.* 2005, 97, p. 749–764.
5. Будаговская Н.В. Снижение водонагнетающей активности корней и скорости роста растений кукурузы при блокировании кальциевых каналов // *Актуальная биотехнология.* № 2, – 2017, С. 131–133.

УДК 664.642

**ПОДБОР МИКРОБНОЙ КОМПОЗИЦИИ ЗАКВАСКИ С УЛУЧШЕННЫМИ  
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ХЛЕБА****Г.С. Волкова, Е.В. Куксова, А.А. Толокнова, Н.А. Фурсова**

ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

Проведены лабораторные экспериментальные исследования получения заквасок для производства хлеба на основе консорциума молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* 314 или *Lactobacillus acidophilus* var. *coccoideus* М-94 и хлебопекарных дрожжей *Sacharomyces cerevisiae* Y-726/5. Цель исследования состояла в изучении процесса накопления биомассы консорциумом молочнокислых бактерий и дрожжей. В качестве питательной среды использовали солодовое сусло 14<sup>0</sup> Б. В процессе культивирования закваски исследовали в динамике общее содержание органических кислот в пересчете на молочную по ГОСТ ISO 750–2013, определяли содержание белка методом Кьельдаля по ГОСТ 32044.1–2012, содержание редуцирующих сахаров методом Шомоди–Нельсона.

Исследована динамика накопления молочной кислоты чистыми культурами молочнокислых бактерий. Установлено, что штамм *L. acidophilus* var. *coccoideus* М-94 имеет более короткую ла-фазу, чем *L. plantarum* 314. На 24 часа роста штаммы синтезируют 1,65–1,80 % молочной кислоты. Штамм *S. cerevisiae* Y-726/5 накапливает биомассы 8 г/100 см<sup>3</sup> питательной среды за 24 часа роста, удельная скорость роста составила 0,181 ч<sup>-1</sup>.

Консорциумы имели следующий состав: *L. plantarum* 314 / *S. cerevisiae* Y-726/5 и *L. acidophilus* var. *coccoideus* М-94 / *S. cerevisiae* Y-726/5. В колбы с выращенной дрожжевой биомассой после 18 часов роста вносили 15 % 24-часовой культуры молочнокислых бактерий и продолжали ферментацию без аэрации в термостате в стационарных условиях в течение 12 часов при 35 °С. Проведено микроскопирование культуральных жидкостей в конце культивирования, которое показало, что культуры дрожжей и бактерий образуют смешенную популяцию и образуют симбиоз [1,2].

Полученные культуральные жидкости центрифугировали при 5000 об/мин. 20 мин. Выход биомассы составил 24,4–22,6 % от культуральной жидкости. Биомасса консорциума дрожжей с *L. plantarum* 314 содержит 53,2 % белка, а биомасса с *L. acidophilus* var. *coccoideus* М-94 – 52,5 %. Анализ аминокислот полученной микробной биомассы консорциумов дрожжей и молочнокислых бактерий по сравнению с биомассой дрожжей показал изменения по содержанию незаменимых аминокислот, незначительное уменьшение содержания лизина, а также увеличение содержания заменимых аминокислот: глицина, пролина, серина.

Полученные результаты аминокислотного состава биомассы консорциумов дрожжей и молочнокислых бактерий позволяют сделать вывод о том, что полученные образцы микробной биомассы являются перспективным источником пищевого белка [3]. Микробные культуры в составе закваски хорошо сочетаются между собой благодаря наличию симбиотических отношений и отсутствию явления антагонизма. Это находит отражение в повышении биотехнологических свойств комбинированной закваски, таких как подъемная сила, высокая скорость роста.

Установлена перспективность использования в хлебопечении комплексной закваски, содержащей штаммы *S. cerevisiae* Y-726/5 и *L. plantarum* 314, которая имеет подъемную силу 44 мин, при этом микробный консорциум закваски имеет высокую удельную скорость роста.

**Исследования выполнены в рамках государственного задания РАН № FGMG-2022–0006**

**Литература:**

1. Локачук М.Н., Савкина О.А., Кузнецова Л.И. Характеристика микробиоты густых ржаных заквасок // Хлебопечение России. 2022. № 1. С. 18–23.
2. Кузнецова Е.А., Насруллаева Г.М., Ковалева А.В. Разработка пробиотической закваски для хлебопечения // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2020. № 5(64). С. 35–39.
3. Петрова М.Н., Савкина О.А., Локачук М.Н., Кузнецова Л.И., Павловская Е.Н., Парахина О.И., Костюченко М.Н. Современные стартовые заквасочные композиции для хлебопечения // Хлебопродукты. 2023. № 5. С. 50–54.

**ВЛИЯНИЕ ЛЬНЯНОЙ МУКИ НА РЕОЛОГИЮ ТЕСТА ИЗ КОМПОЗИТНЫХ СМЕСЕЙ****Н.А. Ревякина, Н.В. Сокол***Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина», Краснодар, Россия*

В современном мире одной из основных проблем является нехватка полезных нутриентов в продуктах питания, составляющих основной рацион питания человека. Хлеб и хлебобулочные изделия относятся к таким продуктам. Введение в их рецептуры муки из нетрадиционных растительных зерновых ресурсов, с повышенной пищевой и биологической ценностью позволит обогатить продукт полезными веществами [2].

В связи с этим, для обогащения хлеба и хлебобулочных изделий нами была выбрана льняная мука, так как в ее составе содержится большое количество макро-, микроэлементов, белка и полиненасыщенных жирных кислот, а именно линолевой и линоленовой. Однако в технологии хлебопечения важен не только химический состав сырья, но и реологические характеристики теста с целью выбора оптимальных параметров процесса тестоведения и качества готовых изделий.

Для исследования влияния льняной муки на реологические свойства теста, на основе полученных данных по влиянию льняной муки на количество и качество клейковины, ЧП, водо – и жиरोудерживающую способности, а также анализа научной литературы [1,3], были выбраны две композитные смеси, с дозировкой льняной муки 5,0 и 7,5 %. В качестве контроля использовался образец муки пшеничной хлебопекарной высшего сорта.

Для исследования использовали «Фаринограф» (фирмы Brabender). Реологические характеристики теста композитных смесей из льняной и пшеничной муки высшего сорта в соотношении (5,0 : 95,0) и (7,5 : 92,5) в сравнении с контрольным образцом представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели прибора фаринограф при исследовании композитных смесей

Показатели качества муки	Мука пшеничная хлебопекарная высшего сорта (контроль)	Композитная смесь (мука льняная: мука пшеничная)	
		(5,0 : 95,0)	(7,5 : 92,5)
ВПС, %	60	63	66
Время образования теста, мин	21,5	5,1	4,2
Устойчивость теста, мин	28,3	10,0	7,4
Разжижение, е.ф.	39	46	61
Валориметрическая оценка, е.в.	97	63	56

Данные, представленные в таблице 1, показали, что добавление льняной муки оказывает значительное влияние на реологические свойства теста. А именно, с увеличением количества льняной муки в композитных смесях водопоглощительная способность и разжижение теста увеличиваются, что можно объяснить, содержанием большого количества пищевых волокон и слизей. При этом уменьшаются показатели время образования, устойчивость теста и валориметрическая оценка, что дает основание говорить о поиске технологических решений при выработке изделий из композитных смесей, позволяющих получить не только полезную, но и качественную продукцию.

**Литература**

1. Конева С.И. Влияние льняной муки на реологические свойства теста из смеси пшеничной и льняной муки и качество хлеба / С.И. Конева, Е.Ю. Егорова, Л.А. Козубаева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2019. – Т. 49, № 1. С. 85–96.
2. Сокол Н.В. Нетрадиционное сырье в производстве хлеба функционального назначения / Н.В. Сокол, Н.С. Храмова, О.П. Гайдукова // Хлебопечение России. – 2011. – № 1. – С. 16–18.
3. Тошев А.Д. Совершенствование технологии и расширение ассортимента мучных хлебобулочных изделий с использованием льняной муки / А.Д. Тошев, К.А. Кочнева. – Текст: непосредственный // Молодой ученый. – 2021. – № 6 (348). – С. 39–42.

УДК 664.66

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СДОБНЫХ БУЛОЧЕК В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ****М.Б. Хоконова, С.Г. Безирова***Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова, Нальчик, Россия*

Хлебобулочные изделия являются продуктами кратковременного хранения. Сроки хранения хлебобулочных изделий исчисляются со времени выхода из печи. Для предотвращения снабжения торговли черствыми изделиями установлены сроки хранения хлеба на хлебопекарном предприятии и в торговой сети. Максимально допустимый срок выдержки хлебобулочных изделий на хлебопекарном предприятии колеблется от 6 часов для изделий массой менее 200 г. до 10 часов для изделий массой более 200 г. из сортовой пшеничной или ржаной сеяной муки; для остальных хлебобулочных изделий – 14 часов [1]. При отправке в торговую сеть каждая партия хлебобулочных изделий сопровождается документом, в котором указывается дата и время выхода из печи.

Сроки и условия хранения влияют на органолептические и физико-химические показатели хлебобулочных изделий. Органолептические показатели, такие как, вкус, запах, цвет и физико-химические – пористость, влажность и т. д.

При укладывании хлебобулочных изделий в один ряд, иногда в два на боковую или нижнюю корку. Для укладки изделий большой массы используют трехбортные лотки с решетчатым дном, а для мелкоштучных булочных и сдобных изделий – четырехбортные со сплошным дном. В настоящее время широко применяют пластмассовые лотки, которые легкие и легко поддаются санитарной обработке [3].

При хранении в хлебе протекают процессы, влияющие на его массу и качество. При этом параллельно и независимо друг от друга идут два процесса: усыхание – потеря влаги и черствение.

Усыхание – уменьшение массы хлеба в результате испарения водяных паров и летучих веществ в окружающую среду. Начинается сразу после выхода изделия из печи. Процесс усыхания в зависимости от скорости протекания делят на два периода.

Первый период длится до остывания хлеба до комнатной температуры. В этот период процессы усыхания идут более интенсивно, и масса изделий уменьшается на 2–4 % по сравнению с массой горячего хлеба. Основным фактором интенсивного усыхания остывающего хлеба является разница температур между коркой и мякишем [2]. Остывание начинается с поверхностных слоев хлеба, постепенно перемещаясь к центру мякиша хлеба. В процессе хранения хлеб остывает до температуры помещения за 2–6 часов в зависимости от массы, формы и условий хранения. Корка хлеба остывает сравнительно быстро, мякиш медленно. В неостывшем хлебе разница между температурой корки и мякишем хлеба значительная. Вследствие этого происходит перемещение влаги от мякиша к корке. Влажность корки после выпечки практически равна нулю, через 3–4 часа корка увлажняется до 14–16 %. Влажность центральных слоев мякиша изменяется в меньшей степени. Перемещение влаги от мякиша к корке в этот период ускоряется вследствие высокой температуры хлеба. По мере остывания скорость усыхания хлеба снижается и, начиная с определенного периода, становится практически постоянной. Поэтому, чем быстрее будут охлаждены изделия, тем меньше будет усыхание. Активное вентилирование в этот период снижает потерю массы.

**Литература**

1. Джабоева А.С. Создание технологий хлебобулочных, мучных кондитерских и кулинарных изделий повышенной пищевой ценности с использованием нетрадиционного растительного сырья // диссерт. на соиск. доктора техн. наук. 2009. 677 с.
2. Гусев, М.В., Минеева, Л.А. Биохимия растительного сырья. учеб. пособие. 4-е изд., стер. – М.: Академия. – 2003. – 464 с.
3. Пашенко Л.П. Жаркова И.М. Технология хлебобулочных изделий / учебник. 2008. 389 с.

## РАЗРАБОТКА ВКУСОВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ

М.Б. Хоконова, М.А. Ахметова

Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. КоковаНальчик, Россия

Пряно-ароматическое растительное сырье используется в различных отраслях народного хозяйства, в том числе для придания пищевым продуктам остроты, приятного аромата и специфического вкуса. Значительная доля его импортируется. Поэтому важной народнохозяйственной задачей является не только увеличение сырьевой базы дефицитного пряно-ароматического и лекарственного растительного сырья, но разработка новых высокоэффективных нетрадиционных способов его переработки, создание малоотходных и безотходных технологий, повышение качества получаемых продуктов, создание на их основе новых изделий с высоким содержанием биологически активных веществ [1, 2].

В настоящее время в безалкогольной, фармацевтической, ликероводочной и косметической промышленности широко применяют экстракты и настои из пряно-ароматического и лекарственного сырья. Шроты после экстракции используют как удобрение либо после специальной обработки – на корм скоту. Однако, по некоторым данным использование отходов в качестве кормов для животных очень неэкономичный способ. Перспективным и экономичным может быть промышленная переработка отходов в продукты питания [2].

Количество биологически активных веществ в смесях для напитков приводится в таблице.

Таблица 1. Содержание биологически активных веществ в растительных смесях для напитков

Растительная смесь для напитка	Содержание витаминов, мг на 100г.			Минеральные вещества, мг на 100 г.						Эфирные масла по числу аромата, мг 0,2 н Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> на 100 г.	Дубильные вещества, мг %
	С	Каротин	Р	К	Na	Ca	Mg	Р	Fe		
Гвоздичный	5,1	0,2	4620,8	1236	116	721	346	257	16,3	0,6	4120
Померанцевый	17,1	0,2	2464,5	1070	41	676	473	233	10,0	0,6	1210
Кориандровый	10,3	0,6	1313,8	1240	92	754	416	218	27,3	1,1	2490
Мятный	10,3	2,9	7761,6	1638	66	706	514	123	28,6	1,1	5670

Полученные данные показывают, что самое высокое содержание витамина С в померанцевой смеси, затем следуют кориандровый и мятный смеси, минимальным количеством отличается гвоздичная смесь, что составляет 5,1 мг на 100г. Померанцевая смесь по остальным витаминам и минеральным веществам занимает промежуточное положение. Кориандровая смесь содержит 745 мг/100 г. кальция, против 676 в померанцевой смеси. Мятная смесь отличается максимальным количеством фосфора, каротина, калия, магния, железа и дубильных веществ.

Таким образом, расширение ассортимента приправ и обогащение их биологически активными и ароматическими веществами является актуальной задачей, так как спрос на приправы и пряности растет, а импортные поставки ограничены.

### Литература

1. Хоконов А.Б., Хоконова М.Б. Подбор дрожжей в технологии сидровых материалов / Сельскохозяйственное землепользование и продовольственная безопасность. Материалы VIII Международной научно-практической конференции, посвященной памяти Заслуженного деятеля науки РФ, КБР, Республики Адыгея профессора Б.Х. Фиашеву. Нальчик, 2022. С. 114–116.
2. Хоконова М.Б., Абдулхаликов Р.З. Современные способы хранения плодоовощной продукции / учебное пособие. – Нальчик: Принт Центр, 2016. – 124 с.

УДК 637.146

**ПРИМЕНЕНИЕ ВОДНЫХ БИОРЕСУРСОВ ДЛЯ ОБОГАЩЕНИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ НАПИТКОВ****Е.В. Богданова, Я.М. Рудова***Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

В настоящее время одним из основных направлений государственной политики является сохранение здоровья населения [1]. Для решения данной задачи необходимо включать в рацион пищевые продукты, оказывающие благоприятный эффект на функциональные системы организма человека. В этой связи большой интерес представляют комбинированные пищевые продукты, которые характеризуются высокой пищевой и биологической ценностью отдельных компонентов рецептуры. Так, комбинирование сырья рыбохозяйственного комплекса с сырьем молочной промышленности позволит ускорить их развитие за счет создания новых ассортиментных групп, дополнительного интереса среди промышленных предприятий и конечного потребителя.

В рамках реализации «Стратегии развития рыбохозяйственного комплекса Российской Федерации на период до 2030 года» к перспективным объектам промысла отнесен антарктический криль (*E. superba*) [2]. Он имеет наибольшую численность и биомассу в водах Антарктики и представляет большой интерес для промышленного вылова. Польза криля обусловлена высоким содержанием жирных кислот  $\omega$ -3, незаменимых аминокислот, минеральных веществ [3].

В связи с представленной актуальностью авторами разработана рецептура греческого йогурта, включающая молоко коровье цельное и обезжиренное, фарш криля, заквасочную культуру прямого внесения Chr. Hansen YF-L 812. Выбор данной закваски обусловлен органолептическими свойствами готового продукта, который отличался густой консистенцией и нежным вкусом, а также низким уровнем постокисления. Установлен его аминокислотный и жирнокислотный состав, на основании чего проведен расчет биологической ценности и эффективности (табл. 1).

Таблица 1 – Биологическая ценность и биологическая эффективность образцов греческого йогурта

Образец	Биологическая ценность, %	Фракционный состав липидов, мг/100г продукта			Биологическая эффективность, %
		НЖК	ПНЖК	олеиновая кислота	
Греческий йогурт с крилем	66,5	58,86	6,19	22,65	45,9
Контроль (традиционный греческий йогурт)	56,0	64,06	4,17	22,40	42,0

Применение фарша криля в составе рецептуры греческого йогурта позволяет получить продукт с низким содержанием липидов и углеводов, высоким содержанием белка, степень удовлетворения потребности в котором в зависимости от физической активности и возраста составляет: 9,8–17,7 % для мужчин и 13,2–19,8 % для женщин. По результатам анализа физико-химических, микробиологических и органолептических показателей в процессе хранения разработанного продукта установлен срок его годности, который составил 10 суток при температуре (4±2) °С.

**Литература**

1. Подбор заквасочных культур для кефирного продукта со сниженной аллергенностью / Р.П. Коржов, А.Н. Пономарёв, Е.И. Мельникова, Е.В. Богданова // Молочная промышленность. – 2015. – № 4. – С. 30–31.
2. Стратегия развития рыбохозяйственного комплекса Российской Федерации на период до 2030 года» (утв. 26 ноября 2019 г. № 2798-р) [Электронный ресурс]. – URL: <http://government.ru/docs/38448/> (дата обращения: 09.07.2023).
3. Позднякова, Ю.М. Обоснование технологии комбинированных молочных продуктов с добавлением БАВ гидробионтов / Ю.М. Позднякова, Т.Н. Пивненко // Научные труды Дальрыбвтуза, 2017. – Т. 42. – С. 90–98.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ В СЫРОМ МОЛОКЕ

*М.Ю. Сыромятников, Е.Ю. Нестерова, М.И. Гладких*

*Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

Непастеризованное молоко включает в состав множество разнообразных микроорганизмов, которые могут содержать гены устойчивости к некоторым группам противомикробных препаратов [1]. Наличие этих генов объясняется использованием антибиотиков для лечения коров от бактериальных инфекций, последствием которых может выступать мастит [2].

Целью работы являлось проведение оценки присутствия генов устойчивости к различным группам антибиотиков в пробах молока от здоровых коров и коров с различным клиническим проявлением мастита.

В ходе проведенной амплификации в реальном времени был установлен рост кривых флуоресценции с группами праймеров и зондов *ermB* и *Mec*. Так, для шести образцов было характерно наличие гена резистентности к антибиотику метициллину. Среднее значение *Ct* составило 29,56, что говорит о низкой распространенности гена в пробах молока. Подавляющее число образцов (17) по результатам ПЦР-анализа показало присутствие в молоке генов антибиотикорезистентности к эритромицину. Среднее значение *Ct* составило 29,76.

ПЦР с электрофоретической детекцией результатов показал совпадение длин амплифицированных фрагментов, характерных для четырёх пар праймеров – CLR, VIM, TetH и *aphVI*. Так, длины полученных фрагментов с праймерами CLR соответствовали заявленной длине для всех 26 образцов молока (рис. 1А). Это свидетельствует о наличии гена устойчивости к антибиотику колистину (309 п.н.). 24 пробы содержали гены устойчивости к тетрациклину (TetH) (рис. 1Б).

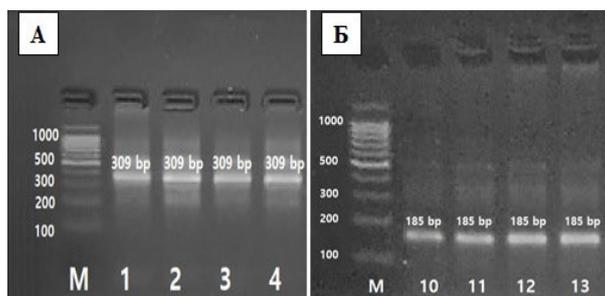


Рисунок 1 – Длина продуктов ПЦР при использовании пары праймеров CLR (А) и TetH (Б)

В таком же количестве образцов были обнаружены гены устойчивости к антибиотикам пенициллиновой и цефалоспориновой группам. Гены устойчивости к гентамицину, торбамицину и амикацину (*aphVI*) были выявлены в 17 образцах. Важно отметить, что в образцах молока от клинически здоровых коров лишь одна проба содержала в своём составе этот ген.

ПЦР-анализ образцов позволил выявить наличие в пробах молока генов резистентности CLR, VIM, TetH, *aphVI*, выявленных на основании проведения электрофоретической детекции, а так же *ermB* и *Mec*, обнаруженных по результатам ПЦР в реальном времени. Это может свидетельствовать о возможной резистентности бактерий молока к таким антибиотикам как тетрациклин, колистин, пенициллин, гентамицин, торбамицин, амикацин.

### Литература

1. Liu J.; Zhu Y.; Jay-Russell M.; Lemay D.G.; Mills D.A. Reservoirs of antimicrobial resistance genes in retail raw milk. *Microbiome*. 2020; 8(1):99. doi:10.1186/s40168-020-00861-6
2. Rubiola S.; Chiesa F.; Dalmasso A.; Ciccio P.D.; Civera T. Detection of Antimicrobial Resistance Genes in the Milk Production Environment: Impact of Host DNA and Sequencing Depth. *Frontiers in Microbiology*. 2020; 11:1938. doi:10.3389/fmicb.2020.01983

УДК 360

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ШИШКАХ И ЛИСТЬЯХ HUMULUS LUPULUS L. ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ОБРАБОТКИ****Д. Аль Хуссейн, Е. Алмуграби, А.А. Мостякова, Тимофеева О.А.***Казанский федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия*

Давно известно, что лекарственные растения содержат биологически активные вещества с целебными свойствами для лечения тяжелых заболеваний человека, в т.ч. оказывают противовоспалительное, противоязвенное и др. действия, проявляют антибиотическую, противовирусную, ферментативную и гормональную активность.

К лекарственным растениям относится хмель обыкновенный (*Humulus lupulus L.*). Шишки хмеля издавна использовались в лечебных целях, потому что они богаты такими активными веществами, как флавоноиды, дубильные вещества, витамины, фенолкарбоновые кислоты, антоциановые кислоты и другие. Кроме того, они во всем мире используются как сырье для пивоваренной промышленности.

Цель работы – проведение сравнительного анализа содержания растворимых фенольных соединений, флавоноидов и дубильных веществ в листьях и шишках хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus L.*).

Посадка корневищных черенков хмеля проводилась в начале мая 2022 года в защищенном грунте. Схема опыта состояла из 4-х вариантов: первый вариант – контроль, во втором добавляли пудрет из расчета 10 г./кг почвы, в третьем варианте обрабатывали гибберсибом (666,6 мкг/л) путем опрыскивания, и в четвертом варианте – эпин-экстра (500 мкл/л) также путем опрыскивания.

Через 4 недели все варианты пересадили в открытый грунт. Пробы для анализа (листья и шишки) отбирали через 12 недель после посадки в открытом грунте. Средняя суточная температура была +14 °С.

Содержание фенольные соединения определяли по модифицированному методу Фолина-Чокальта, оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при 725 нм. Флавоноиды определяли по реакции с  $AlCl_3$  калориметрическим методом при 430 нм. Содержание дубильных веществ определяли в пересчете на галловую кислоту, оптическую плотность измеряли при 277 нм.

Установлено, что содержание фенольных соединений, флавоноидов и дубильных веществ в шишках хмеля контрольного варианта было значительно выше по сравнению с листьями. Все регуляторы роста растений и биоудобрения повысили изучаемые показатели. Наибольший эффект на содержание растворимых фенольных соединений оказал гибберсиб, который увеличивал их количество в листьях на 13,26 и на 52,19 % в шишках по сравнению с контролем. Эпин-экстра в большей степени повышал содержание флавоноидов и дубильных веществ. В этих условиях количество флавоноидов увеличивалось в листьях на 50,09 и на 55,68 % в шишках, содержание дубильных веществ – в шишках на 35,48 %, и в листьях на 21,05 % по сравнению с контролем.

**БИОТЕХНОЛОГИЯ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ НА ОСНОВЕ ТВОРОЖНОЙ СЫВОРОТКИ****О.В. Бондарева, Г.П. Шуваева, О.С. Корнеева***Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

Эффективность производства молочной продукции в РФ стабильно растет и требует совершенствования существующих и разработки новых технологий переработки отходов молочной промышленности. Объем основного отхода – молочной сыворотки составляет порядка 6,5 млн т в год, в то время как переработке подвергается лишь 45 %, а остальная часть попадает в сточные воды.

Молочная сыворотка, образующаяся при производстве молочных продуктов, имеет богатый химический состав (около 20 % белков, 95 % лактозы, 80 % минеральных веществ и 10 % молочного жира, по теоретическим расчетам это: 30, 225, 35 и 20 тыс. т, соответственно), что объясняет актуальность проблемы её переработки на протяжении последних десятков лет. Ученые разных стран мира занимаются научными исследованиями в этом аспекте. Крупнейшим экспортером в данной отрасли является Белоруссия, Российская Федерация, по данным Milknews, в 2022 году вошла в десятку стран импортеров сывороточных продуктов.

По данным литературных источников, из трех видов молочной сыворотки (казеиновая, творожная и подсырная) наиболее востребованной является подсырная, 65 % которой перерабатывается в концентрат и используется для получения кристаллической лактозы [1,2].

Согласно данным объединения «Союзмолоко», в России с каждым годом увеличиваются объемы производства творога (до 900 тыс. т в год), и, соответственно, увеличивается объем творожной сыворотки. Промышленная переработка её, в настоящее время, осуществляется для получения лактозы, молочной сыворотки, концентратов молочной сыворотки.

Наиболее актуален и экономически выгоден способ переработки творожной молочной сыворотки в молочную кислоту, спрос на которую растет из года в год в среднем на 4,2 %. В настоящее время основной объем молочной кислоты импортируется из Китая. Поэтому настоятельной необходимостью является разработка биотехнологии получения молочной кислоты, внедрение которой не только снизит долю импорта молочной кислоты, но и существенно уменьшит нагрузку на окружающую среду [3].

Данный способ включает в себя процесс культивирования *Lactobacillus casei* ВКПМ В-5726 на питательной среде на основе творожной сыворотки с добавлением дрожжевого автолизата и минеральных солей. Предварительно творожную сыворотку освобождают от белков пастеризацией и центрифугированием в изoeлектрической точке 6,7. В ходе культивирования ведут контроль за рН среды и поддерживают с помощью 20 % гидроокиси кальция на уровне 6,7. Через 72 ч культивирования биомассу отделяют центрифугированием, а культуральную жидкость содержащую лактат кальция отправляют на очистку.

Таким образом, биотехнология получения молочной кислоты из творожной сыворотки позволяет повысить выход целевого продукта с использованием дешевого сырья, а также снизить нагрузку на окружающую среду.

**Литература**

1. Щетинин, М.П. Производство и переработка молочной сыворотки в России и Алтайском крае / М.П. Щетинин, А.С. Дорохова // Ползуновский вестник. – 2013. – № 4–4. – С. 80–84. – EDN SNABLB.
2. Полянский, К.К. Предварительная кристаллизация лактозы при сушке сыворотки / К.К. Полянский // Переработка молока. – 2017. – № 8(214). – С. 24–25. – EDN ZENJFD.
3. Патент № 2779113 С1 Российская Федерация, МПК С12Р 7/56, С12R 1/245. Способ получения молочной кислоты из творожной сыворотки : № 2021139602 : заявл. 29.12.2021 : опубл. 31.08.2022 / О.С. Корнеева, Г.П. Шуваева, О.В. Бондарева [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Воронежский государственный университет инженерных технологий". – EDN HICXFN.

## ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЛИПАЗЫ LipA ПУТЕМ ВНЕСЕНИЯ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ НА ОСНОВЕ РАСЧЕТОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Д.А. Черенков<sup>1</sup>, А.А. Толкачёва<sup>1</sup>, М. С. Кондратьев<sup>2</sup>, М.Г. Шарапов<sup>2</sup>, Н.В. Пеньков<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж, Россия

<sup>2</sup> Институт биофизики клетки РАН, Москва, Россия

На предприятиях пищевой и химической отраслей промышленности образуются различные формы загрязнителей липидной природы, чрезвычайно трудно поддающиеся естественному разложению. Эти загрязнители могут быть представлены маслами, жирами, восками и другими липидами. В качестве одного из средств расщепления загрязнителей липидной природы могут быть предложены ферментные системы на основе липаз. Однако ограничением применения липаз в промышленности является их низкая термостабильность. С целью повышения термостабильности ферментов и, в частности, липазы LipA, нами были использованы методы биоинженерии на основе расчетов молекулярной динамики, разработанных в Лаборатории структуры и динамики биомолекулярных систем Института биофизики клетки РАН. Метод расчетов предполагает новый подход к повышению термостабильности малых глобулярных белков путем обоснованного увеличения количества альтернативных водородных связей между боковыми группами заряженных аминокислотных остатков на поверхности глобулы. Перечень аминокислотных остатков для проведения замен и сами варианты мутаций были предложены нами в результате анализа пространственной структуры каждого из исследуемых белков на графической станции nVidia Quadro FX380 с комплектом 3D Vision. Ген LipA с нативной структурой из *B. Subtilis* 168 был амплифицирован с применением соответствующих генспецифических праймеров, клонирован в вектор pET23b(+) (Novagen) по сайтам рестрикции EcoRI и XhoI. Полученными конструкциями трансформировали клетки *E. coli* Top10. Культуру клеток, содержащих рекомбинантную ДНК культивировали на среде LB с ампицилином. После индукции синтеза целевой белок выделяли методом аффинной хроматографии на Ni-агарозе. Термостабильность полученных мутантных форм фермента LipA определяли методом микрокалориметрии. Обнаружено, что каждая из проведенных аминокислотных замен повышает термостабильность молекулы фермента на 1,5 °С. Таким образом, нами подтверждена обоснованность применения расчетов молекулярной динамики с целью увеличения количества альтернативных водородных связей в молекуле фермента LipA, для повышения его термостабильности. Данный метод может быть применен для модификации ферментов промышленного назначения.

**ЗНАЧЕНИЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И КОЛЛАГЕНА В ЗАЖИВЛЕНИИ РАН И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ СРЕДСТВАХ**

*А.Р. Арзуманова<sup>1</sup>, А.С. Рябова<sup>1</sup>, О.В. Лепехина<sup>1</sup>, С.А. Попович<sup>1</sup>, А.А. Толкачева<sup>1</sup>, А.В. Соколова<sup>1</sup>,  
Н.А. Дронов<sup>2</sup>, М.В. Аралова<sup>2</sup>, Д.А. Черенков<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

<sup>2</sup>*Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж, Россия*

Раневой процесс представляет собой комплекс ответных реакций организма на различные виды повреждений и имеет фазовый характер развития, начиная с момента получения раны и заканчивая ее полным заживлением.

Консервативное лечение предполагает принцип «влажного заживления ран», так как только во влажной среде могут быть обеспечены оптимальные условия заживления и их аутолитическое очищение. Местная терапия ран сводится к применению различных перевязочных материалов с учетом их особенностей и фазы развития раневого процесса, причем их применение оправдано на всех стадиях. На сегодняшний день известно множество модифицированных перевязочных материалов, которые значительно облегчают и ускоряют разрешение раневого процесса. Их количество постоянно растет, актуальной задачей также является поиск универсальных средств, которые могли бы применяться для как можно более широкого спектра ран. Для достижения поставленной задачи необходимо проводить исследования по поиску наиболее эффективных композиций, содержащих биосовместимые ранозаживляющие компоненты, к которым, в частности, относятся коллаген и гиалуроновая кислота.

Коллаген играет значимую роль в процессе репарации ран: он способствует образованию переходного матрикса, который в свою очередь стимулирует иммунную систему, способствует переносу факторов роста и усиливает пролиферацию эпителиальных клеток. Коллагену отведена ключевая роль в качестве сигнальной молекулы на протяжении всех фаз раневого процесса, поэтому его наружное применение перспективно для заживления ран. Коллаген может долгое время находиться в ранении, не вызывая раздражения и не способствуя размножению бактерий, способен образовывать комплексы с другими биологически активными веществами.

Известно, что гликозаминогликаны, к которым, в частности, относится и гиалуроновая кислота, оказывают влияние на сохранение тканевой проницаемости, регулируют дифференцировку клеток, а также блокируют расщепление коллагена на этапе регенерации. Гиалуроновая кислота способствует структурной стабилизации ткани, стимулирует миграцию клеток, контролирует деградацию фибриновых волокон, что особенно важно на ранних этапах заживления ран. Ее накопление на ранних этапах заживления способствует образованию коллагена. Помимо вышеперечисленных свойств, гиалуроновая кислота способна образовывать на поверхности ран вязкий слой, который не только будет защищать их от внешнего воздействия, но и предупредит испарение влаги и пересыхание раны.

Таким образом, применение композиций на основе гиалуроновой кислоты и коллагена в купировании раневого процесса является перспективным направлением, данные вещества являются идеальными кандидатами ввиду их высокой биосовместимости и адаптируемости для моделирования защитной и ранозаживляющей функции. В комплексе с дополнительными компонентами возможно создание полифункциональных средств в различных формах: повязки, гидрогели, гидроколлоиды, и альгинаты.

УДК 543.31

## ПРИМЕНЕНИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В КОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ АССОЦИАЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКИ ИНДЕКСА БПК И ТОКСИЧНОСТИ ПРИРОДНЫХ ВОД

*А.С. Харькова**Тульский государственный университет, Тула, Россия*

Индекс биохимического потребления кислорода (БПК) и индекс токсичности являются важными интегральными показателями качества природных вод и позволяют оценить условия обитания полезных гидробионтов. Стандартные методы анализа указанных показателей требуют значительное время контакта тест-объектов с пробой, что снижает оперативность мониторинга, поэтому разработка устройств экспресс-оценки токсичности и индекса БПК актуальны. Целью данного исследования является формирование рецепторных систем для оценки указанных показателей. Среди разных подходов разработки экспресс-устройств, использование биоматериала совместно с амперометрическим преобразователем наиболее эффективно [1]. Такие системы основаны на генерации биокаталитического тока за счет передачи к поверхности преобразователя электронов, образующихся в результате контакта биоматериала с поллютантами, с помощью окислительно-восстановительных соединений (медиаторов) [2, 3]. Данный подход позволяет миниатюризировать аналитическую систему, проводить анализ в анаэробных условиях [2, 3]. Основными задачами формирования экспресс-устройств являются выбор биоматериала, чувствительного к поллютантам пробы на основе ассоциаций микроорганизмов, и выбор эффективного сопряжения с преобразователем, за счет использования композитных материалов.

Установлено, что для определения БПК наибольшим биотехнологическим потенциалом обладает ассоциация *B. adenivorans* и *O. polymorpha*, а для оценки токсичности – *P. yeii* и *S. cerevisiae*. Указанные комбинации микроорганизмов обладают сходными ростовыми параметрами, близкими удельными скоростями роста, стабильностью микробного состава при биосенсорном анализе: соотношение количества жизнеспособных клеток в ассоциации не изменялось от первоначально заданного в течение 15 и 4 суток, соответственно. Методами циклической вольтаметрии, амперометрии и импедансной спектроскопии выбраны составы композитов для иммобилизации ассоциаций: модифицированный нейтральным красным хитозан совместно с УНТ для *O. polymorpha* и *B. adenivorans*, а для второй ассоциации модифицированный нейтральным красным БСА (Массовые доли нейтрального красного в композите 16 и 4,3 % для БСА и хитозана, соответственно).

Нижняя граница определяемых концентраций разработанного биорецептора для определения БПК составляет 0,6 мг/дм<sup>3</sup>, что позволяет проводить анализ проб, значение БПК которых ниже ПДК, при этом время единичного замера составляет 4–5 минут. Разработанный рецепторный элемент для оценки токсичности по чувствительности к ионам Ni<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> и к фенолу превосходит биосенсоры-аналоги [3] (концентрации токсикантов, вызывающие снижение активности рецепторного элемента на 50 % составляют 9,4; 3,2; 7,6 и 7,5 мг/л, соответственно), при этом время единичного замера 10 минут. Рецепторные элементы прошли апробацию на образцах поверхностных вод Тульской области и городского округа Ступино. Высокие аналитические возможности рецепторных систем в перспективе позволяют их использовать в качестве прототипов экспресс-анализаторов поверхностных вод.

*Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук, номер гранта МК-4815.2022.1.4.*

### Литература

1. V.A. Arlyapov, Y.V. Plekhanova, O.A. Kamanina, H. Nakamura, A.N. Reshetilov //Biosensors. 2022. V. 12. I. 10. N. 842.
2. C. Zhao, G. Wang, M. Sun, Z. Cai, Z. Yin, Y. Cai //Fibers and Polymers. 2021. V. 22. P. 1208–1217.
3. D. Yu, J. Li, Z. Kang, L. Liu, J. He, Y. Fang, H. Yu, S. Dong // Analyst. 2020. V. 145. I. 15. P. 5266–5272.

## СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Е.А. Бунеева<sup>1</sup>, Д.А. Черенков<sup>1</sup>, А.А. Толкачёва<sup>1</sup>, О.В. Бондарева<sup>1</sup>, Е.Г. Абрамова<sup>1</sup>, А.С. Вострикова<sup>1</sup>,  
Е.С. Шибкова<sup>2</sup>, С.У. Собиров<sup>2</sup>, Т.В. Лыкова<sup>2</sup>, С.В. Кирьянова<sup>2</sup>, М.М. Гапак<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», Калининград, Россия

На сегодняшний день биотехнология растениеводства является актуальным направлением в сельском хозяйстве. Одной из задач данной отрасли является создание высокоэффективных биопрепаратов различного спектра действия, которые на российском рынке представлены: биоpestицидами, биоудобрениями, биостимулянтами. Как правило, главными компонентами таких препаратов являются живые микроорганизмы, среди которых важную роль играют азотфиксирующие бактерии. Несмотря на высокие общие запасы азота в почве, основная его часть содержится в виде соединений, недоступных или малодоступных для питания растений. Азотфиксирующие микроорганизмы способны фиксировать молекулярный азот и переводить элементы питания растений из нерастворимых соединений в доступные формы [1]. С целью подбора микроорганизмов для создания биопрепаратов, стимулирующих фиксацию атмосферного азота, была определена азотфиксирующая способность трех родов бактерий методом Несслера.

Для исследования были выбраны азотфиксирующие бактерии: *Azospirillum brasilans* Sp7, *Azotobacter chroococcum*, *Agrobacterium radiobacter* 166. Микроорганизмы посеяли на чашки Петри со средой Берка и выращивали в течение 7 суток при 30 °С. Из выращенных культур смывом приготовили инокулят, засеяли колбы Эрленмейера объёмом 750 см<sup>3</sup>, содержащих по 250 см<sup>3</sup> той же среды, и культивировали в течение 72 часов при 30 °С в шейкер-инкубаторе при 200 об/мин. Содержимое колбы центрифугировали, надсадочную жидкость собрали. В отобранной жидкости определяли количество азота по методу Несслера. Оптическую плотность испытуемых растворов измеряли при 400 нм в кюветках с толщиной слоя 10 мм, в качестве раствора сравнения использовали среду, не засеянную бактериями. Количество азота определяли по ранее построенному градуировочному графику, общее количество азота рассчитывали по формуле.

Были получены следующие данные о количестве зафиксированного азота при глубинном культивировании: *Azospirillum brasilans* Sp7 – 0.026 мг/мл; *Agrobacterium radiobacter* 166 – 0.2332 мг/мл; *Azotobacter chroococcum* – 1.582 мг/мл.

По результатам работы сделали вывод, что наибольшей азотфиксирующей способностью обладает *Azotobacter chroococcum*. Данный микроорганизм может быть использован в качестве компонента биопрепаратов, стимулирующих фиксацию атмосферного азота. В дальнейшем планируются работы по наработке достаточного количества биомассы для инокуляции бобовых, а также проведению испытаний в полевых условиях.

## Литература

1. А.Н. Быковская, М.Л. Сидоренко, Н.А. Слепцова, А.Г. Клыков, В.В. Бережная, Д.А. Колесникова. Применение агрономически ценных бактерий для повышения почвенного плодородия и урожайности ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) // Вестник ДВО РАН. – 2020. – № 1. – С. 75–82.

УДК 664.78.01

## ПОДБОР ПАРАМЕТРОВ БИОРАЗЛОЖЕНИЯ БАЛЛАСТНЫХ ВЕЩЕСТВ КОНОПЛЯНОГО ШРОТА

*Л.И. Василенко, А.С. Злобина, И.А. Москвитина, Е.А. Мотина*

*Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

Производство альтернативного белка становится все более разнообразнее и популярнее. Отказ от животных белков приобретает все более массовый характер. Для решения данной проблемы необходим научный подход к исследованию возможных альтернатив высококачественных растительных белков, являющихся альтернативой животным белкам и не уступающим им по биологическим функциям. В настоящее время повышенное внимание уделяется ревалоризации побочных продуктов пищевой промышленности, в особенности их альтернатив и возможности использования. Поэтому получение альтернативных пищевых белков на основе вторичного масличного сырья технической конопли будет востребовано в ближайшей перспективе.

С каждым годом подбираются новые виды растительного сырья для производства растительного молока. Так одним из перспективных видов сырья является ядро конопляного семени (*Cannabis Sativa L.*), получаемые из однолетних лубоволокнистых растений семейства «Коноплевые» (*Cannabaceae*).

Пищевые продукты на основе конопли считаются менее аллергенными, чем продукты из других съедобных семян. В настоящий момент в линейке функциональных продуктов все большие обороты набирает так называемое «конопляное молоко». Продукты, изготовленные на его основе богаты витаминами, макро- и микроэлементами.

Крахмал и олигосахаридные фракции – являются одними из балластных компонентов в растительном сырье. Последние особенно заслуживают внимания в процессе получения белковых препаратов и продуктов, так как под воздействием температуры способны вызвать образование нерастворимых комплексов, которые отрицательно влияют на функционально-технологические свойства продукта белковой природы.

Целью работы было исследование влияния способов экстракции и биодegradации углеводной фракции конопляного шрота и получение высокобелкового концентрата. В качестве объекта исследования использовался конопляный шрот, полученный путем экстракции органическим растворителем NaOH 1M. Опытным путем была выявлена оптимальная температура для проведения ферментативного гидролиза.

Биодegradацию балластных компонентов в смеси проводили ферментными препаратами: «Амилосубтилин», «Глюкогам», «Целлолюкс-А». Продолжительность процесса гидролиза составляла 1,5 часа, после чего проводилась экстракция белковых фракций и полученная суспензия отправлялась на ультрафильтрацию. Белки оставались в концентрате, который затем отправляли на распылительную сушилку. Полученные соли, фенолы и моносахариды уходили в пермеат, который в дальнейшем можно использовать для выращивания культур микроорганизмов, поскольку содержание солей в нем оптимально для стабилизации системы при получении кормового белка.

После удаления балластных веществ был получен концентрат конопляного белка с массовой долей белковых веществ 82 %. Данная технология позволила получить светло окрашенный водорастворимый белок с высокими функционально-технологическими свойствами.

### Литература

1. Злобина А.С., Москвитина И.А., Василенко Л.И., Мотина Е.А. Изучение условий биодegradации балластных веществ конопляного шрота // Материалы студенческой научной конференции за 2023 год [Текст] / под общ. ред. доц. А.С. Белозерцева; Воронеж. гос. ун-т инж. технол. – Воронеж: ВГУИТ, 2023. – С. 211
2. Москвитина И.А., Злобина А.С., Василенко Л.И., Мотина Е.А. Биотехнология получения растительного напитка из конопляного молока // Материалы студенческой научной конференции за 2023 год [Текст] / под общ. ред. доц. А.С. Белозерцева; Воронеж. гос. ун-т инж. технол. – Воронеж: ВГУИТ, 2023. – С. 212

**ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ РЕНАТУРАТА ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА-2В  
ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО РЕКОМБИНАНТНОГО****Е.А. Пименова, Е.А. Мотина, В.В. Кутузова, С.Ф. Яковлева***Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

На сегодняшний день мир сталкивается все с новыми вызовами, связанными с распространением тяжелых вирусных заболеваний. Интерфероны альфа-2а и альфа-2в являются препаратами, которые широко используются в медицинской и ветеринарной практике при лечении различных заболеваний. Они применяются для борьбы с вирусами и рецидивами онкологических заболеваний.

Разработка и реализация эффективной технологии, позволяющей оптимизировать синтез интерферона альфа-2в с целью получения более высокого выхода продукта, является актуальной задачей промышленного производства. Это связано с широким спектром биологических свойств интерферона как иммуномодулятора. Высоко актуальной является задача обеспечения внутреннего рынка России субстанцией интерферона альфа-2а и альфа-2в отечественного производства, а также создания коммерчески рентабельной технологии производства субстанции на основе высокопродуктивных систем промышленного получения и хроматографической очистки генетически модифицированных бактериальных продуцентов

Цель работы – изменение состава денатурирующего буфера с проведением растворов тел включения в буферах, используемых на этапе денатурации интерферонов.

Внешние проявления денатурации сводятся к потере растворимости, особенно в изоэлектрической точке, повышению вязкости белковых растворов, увеличению количества свободных функциональных SH-групп и изменению характера рассеивания рентгеновских лучей. Наиболее характерным признаком денатурации является резкое снижение или полная потеря белком его биологической активности. При денатурации белка, вызванной мочевиной или гуанидином, например, 6М гуанидином или 8М мочевиной, разрушаются в основном нековалентные связи (в частности, гидрофобные взаимодействия и водородные связи). Дисульфидные связи в присутствии восстанавливающего агента меркаптоэтанола разрываются, в то время как пептидные связи самого остова полипептидной цепи не затрагиваются. В этих условиях разворачиваются глобулы нативных белковых молекул и образуются случайные и беспорядочные структуры.

На этапе растворения тел включения и восстановлении белка в ходе эксперимента были использованы буферы следующих составов:

Буфер № 1: гуанидин гидрохлорид – 6 М; прис-(гидроксиметил) – аминотетан – 20 мМ.

Буфер № 2: гуанидин гидрохлорид – 7 М; прис-(гидроксиметил) – аминотетан – 50 мМ; натрия хлорид – 150 мМ; ЭДТА – 1 мМ.

Буфер № 3: гуанидин гидрохлорид – 8 М; трис-(гидроксиметил) – аминотетан – 1 М; ЭДТА – 1 мМ.

Буфер № 4: мочевина – 8 М; ЭДТА – 1 М; трис-(гидроксиметил) – аминотетан – 0,1 М.

Растворы готовили следующим образом: тельца включения массой 1000 г. измельчали и распределяли равными частями по 250 г. на 4 химических стакана, объемом 3 – 5 л. Затем вносили по 1900 мл буфера в каждый стакан и разминая тельца в растворе, проводили их растворение.

К раствору денатурированного белка с помощью автоматической пипетки добавляли 2-меркаптоэтанол до концентрации 100 ммоль/л.

Полученный раствор белка инкубировали 16 часов при комнатной температуре и постоянном перемешивании.

После инкубирования с помощью автоматической пипетки отбирали аликвоту для определения массы белков с помощью спектрофотометра при  $OD_{\lambda=280}$  нм и  $\lambda=260$  нм.

Согласно полученным результатам, буфер содержащий 6М гуанидин гидрохлорид, 20 мМ трис-(гидроксиметил) – аминотетан обеспечивают оптимальные условия для денатурации белка, о чем свидетельствует повышенная масса и концентрация белка.

УДК 541.64:547.995.12

**РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ДЕГРАДАЦИИ ХИТОЗАНА****С.Ф. Яковлева, Е.А. Мотина, Н.А. Матвиенко***Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

Одним из важнейших процессов поддержания качества пищевых продуктов является упаковка для транспортировки, хранения и конечного использования. Упаковочные пленки не только облегчают продажу и маркетинг, предотвращая ухудшение качества, но и также они могут быть съедобными и биоразлагаемыми. Материалы на основе полиэтилена являются более известными упаковочными материалами, которые используются уже более 50 лет в пищевой промышленности. Однако некоторые из них являются вредными для окружающей среды.

Неизбирательное использование и сброс таких пластиковых отходов принесли проблемы загрязнения окружающей среды, что со временем приобрело глобальный характер.

Чтобы удовлетворить нарастающий потребительский спрос на натуральные упаковочные материалы для улучшения качества и безопасности продуктов начали использовать биополимеры – биоразлагаемые продукты, такие как белки, липиды и полисахариды.

В настоящее время, наблюдается большой интерес к природному полисахариду хитозану, благодаря широкому спектру его полезных свойств он может применяться в качестве компонента биоразлагаемых пленок. Его безвредность для организма и окружающей среды является неоспоримым достоинством среди других полисахаридов. Хитозан экологически чист и полностью распадается на безвредные для окружающей среды элементы.

Для разработки биотехнологии ферментативной деградации хитозана использовали ферментативный препарат *Bacillus subtilis*, проявляющий хитинолитическую активность 0,15–0,55 ед./мл. Процесс растворения и гидролиз хитозана ферментным препаратом *Bacillus subtilis* проводили в ферментере с регуляцией подачи уксусной кислоты и раствора NaOH.

Исходный хитозан растворяли при pH 4,9–5,4 в 0,2 М ацетатном буфере, приготовленном непосредственно в ферментере, нагревали до 45 °С и добавляли ферментный комплекс. По окончании времени гидролиза в ферментер добавляли раствор щелочи до установления pH 11. При этом низкомолекулярный хитозан (НМХ) выпадает в осадок и отделяется фильтрованием. Затем осадок 2–3 раза промывали дистиллированной водой до pH 9, НМХ растворяли, для чего доводили pH суспензии до 6–7 соляной кислотой и подвергали раствор распылительной сушке, получая порошкообразный продукт от белого до кремового цвета.

Исследовали зависимость молекулярной массы получаемого НМХ от количества вносимого ферментного препарата. Поскольку хитиназная активность разных партий ферментного препарата *Bacillus subtilis* может отличаться, то показателем количества вносимого фермента установили соотношение единицы активности на 1 г сухого хитозана. Ферментализацию проводили в одинаковых условиях в течение 180 минут. При внесении в реакционную массу ферментного препарата более 1 ед./1 г хитозана выход НМХ снижался на 20–25 % за счет потерь низкомолекулярной фракции.

Внесение ферментного препарата в количестве менее 0,8 ед./1 г приводило к получению НМХ не полностью растворимого в воде. Оптимальной нормой внесения ферментного препарата *Bacillus subtilis* считали 1,0±0,4 ед./1г.

Растворение сухого хитозана осуществляли в течение 12–16 ч при 18–22 °С, затем раствор нагревали до 45–46 °С, добавляли ферментный препарат и проводили гидролиз. Жесткие условия получения исходного хитозана и его последующая сушка придают полимеру с высокой степенью деацетилирования сформировавшуюся вторичную структуру, что препятствует его растворению и гидролизу. С целью смягчения условий процесса, хитозан подвергали гидролизу сразу после деацетилирования, минуя стадию сушки.

Установлено, что по сравнению с сухим полимером, влажный хитозан, не подвергавшийся сушке, поддается гидролизу за более короткое время и позволяет получить НМХ с меньшей молекулярной массой.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ КАЛЬЦИЯ

*Е.А. Сизова<sup>1,2</sup>, Т.Н. Холодилина<sup>1,2</sup>, К.А. Казаев<sup>1</sup>, А.С. Мустафина<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Оренбург, Россия

<sup>2</sup> Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

### Введение

Уровень кальция в рационе птицы напрямую влияет на физиологическое состояние и продуктивность, и, как следствие, на экономическую эффективность отрасли. Важным критерием доступности кальция из рациона является качество яичной скорлупы и качество костной ткани [9]. Состояние дефицита кальция приводят к сокращению производственного цикла использования птицы или к полной потере продуктивных качеств [13]. Несмотря на широко представленную научную проработку вопроса влияния источников кальция на продуктивность, поиск наиболее доступной формы кальция для организма птицы является актуальным и на сегодняшний день [6].

В птицеводстве, как и в животноводстве в целом, до сих пор очень популярно использование традиционных источников кальция в виде карбонатов, входящих в состав мела, известняка, ракушечника [4]. Доступность кальция из неорганических солей достаточно низкая, несмотря на высокое его содержание до 40 %. Исследования ведутся в нескольких направлениях: повышение уровня использования традиционных источников кальция (мел, ракушечник, известняк), использование органических форм [1], использование регуляторов кальциевого обмена [2]. Как правило, синтез более доступных форм кальция является высокзатратным, что в условиях современной экономики не приводит к широкому использованию в промышленном птицеводстве. Альтернативой карбонату, могут выступать: цитрат, лактат, глицерофосфат, глюконат, сульфат, аспарат и их комбинации с витамином Д<sub>3</sub>, микроэлементами, эстрогенами. Существенное различие между этими препаратами заключается в разной биодоступности. Механизм доступности кальция из солей известен и зависит от нескольких факторов, прежде всего это доза, одновременное поступление синергистов и антагонистов, кислотность желудочного сока, режим приема [8]. Выбор правильной фармакотерапии позволяет исключить коморбидные состояния, связанные с нарушением минерального обмена. Препараты кальция на основе неорганических солей (карбонат, фосфат кальция) являются наиболее изученными по воздействию на организм и более доступными по цене. Основным их недостатком является малая растворимость и низкая скорость растворения и, как следствие, низкая эффективность. Органические соли кальция представлены более усваиваемыми формами: цитратом кальция, лактатом кальция и глюконатом [3].

По данным Федеральной службы ветеринарного и фитосанитарного надзора (Россельхознадзор) на сегодняшний день в РФ зарегистрировано 18 кормовых добавок для нормализации кальциевого обмена и восполнения дефицита кальция у сельскохозяйственных животных. Из них только 3 отечественных производителя.

Сопутствующей проблемой является развитие остеопороза у высокопродуктивной птицы, приводящее к хрупкости костей и переломам. Все это приводит к значительным убыткам, как в частном секторе, так и на производстве.

Особую значимость этот вопрос приобретает в период повышенного риска ухода с рынка зарубежных компаний, являющихся основными поставщиками премиксов и минеральных добавок в России. Поиск вариантов использования доступных отечественных источников кальция, способных стать достойной альтернативой существующим природным и коммерческим источникам кальция, является перспективным направлением. Таким образом, целью исследований явилась оценка эффективности применения различных источников кальция, влияние на продуктивность и минеральный состав биосубстратов цыплят-бройлеров.

### Материалы и методы

В рамках исследования суточные цыплята-бройлеры кросса Арбор Айкрес были поделены на четыре группы (n=30). Цыплята контрольной группы получали основной кормовой рацион. Основой для приготовления кальцийсодержащей кормовой добавки служила доломитовая мука.

Опытные группы в период с восьмисуточного возраста получали данную кормовую добавку: I опытная – в виде хлорида кальция в питьевой воде, II опытная – в виде цитрата кальция и III опытная – в виде нативной доломитовой муки, в дозировке 2 %.

Кормление цыплят-бройлеров на протяжении всего эксперимента 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 анализ выполнялся на одноквадрупольном масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900 ICP-MS (Agilent, США). Пробоподготовка велась с использованием микроволновой системы пробоподготовки TOPEX+ (PREEKEM, Китай).

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.

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

В эксперименте, при одинаковой питательной ценности рациона, получен разный уровень продуктивности. Во всех опытных группах наблюдается тенденция к увеличению живой массы. Так, на конец эксперимента лидерами по живой массе стала II опытная группа, получавшая цитрат кальция, разница с контролем составила 15,94 % ( $P \leq 0,05$ ). Подобные результат был получен в I опытной группе при разнице с контролем 14,9 % (таблица 1).

Таблица 1 – Динамика живой массы цыплят-бройлеров в эксперименте

Возраст, сут	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
11	271,3±15,4	317,6±14,4*	318±14,5*	330,5±13,6*
18	509,3±27,9	531,5±20,4	558,3±15,3*	505,7±27,7
25	720,7±23,3	812,5±19,5	868,7±20,2*	708,3±24,7
32	1067,7±31,9	1160,7±47,9	1245,8±23,9**	1023,7±55,4
39	1525,5±43,5	1525,8±109,2	1717,8±53,2*	1621,8±95,7
46	1887±67,2	2168±75,3	2187,8±73,1*	1979±65,1

Примечание: \* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,05$ ), \*\* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,01$ )

При реализации эксперимента были оценены кальций-зависимые показатели в крови, в том числе регуляторы кальциево-фосфорного обмена (кальцитонин) и витамин Д<sub>3</sub> [2]. Результаты показали наличие различий с контрольной группой. Уровень витамина Д<sub>3</sub>, обеспечивающий всасывание в тонком кишечнике кальция и фосфора и поддержание в крови их уровня (Chirayath M.V., et al., 1998), в экспериментальных группах с максимальной продуктивностью, был выше контрольного значения (таблица 2). Так, витамин Д<sub>3</sub> в I опытной группе возрастает на 104,85 % ( $P \leq 0,05$ ), во II – на 87,95 % ( $P \leq 0,05$ ).

Таблица 2 – Динамика концентрации некоторых биохимических показателей сыворотки крови

Группа	Витамин Дз, нг/мл	Кальцитонин, пг/мл	Щелочная фосфатаза, МЕ/л
контрольная	14,02±2,66	58,92±5,86	1935,25±42,08
I опытная	28,72±2,91*	60,65±4,31	2079,5±65,53*
II опытная	26,35±3,84*	53,47±5,21	2220±55,21**
III опытная	8,42±0,56	38,25±2,42*	2200,2±79,38*

Примечание: \* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,05$ ), \*\* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,01$ )

Динамика кальцитонина в эксперименте не была достоверной. В опытных группах, за исключением I группы, наблюдалась тенденция снижения его уровня. При этом, образование кальцитонина напрямую зависит от уровня кальция в крови: при его повышении концентрация кальцитонина увеличивается, а при падении – снижается [11]. Уровень кальцитонина в III опытной группе снизился на 35,08 % ( $P \leq 0,05$ ).

Щелочной фосфатазой называют группу ферментов, которые отделяют фосфор от органических соединений и переносят его в клетки тканей и органов [12]. Так, в эксперименте активность фермента в опытных группах превышала контрольные значения с разницей: в I опытной группе на 7,45 % ( $P \leq 0,05$ ), во II – 14,71 % ( $P \leq 0,01$ ), в III – 13,69 % ( $P \leq 0,05$ ).

Известно, что основным фактором, влияющим на формирование костной ткани и скорлупы, является уровень усвоенного кальция организмом. При этом, важна не только его концентрация, но и уровень синергистов кальция – магния, фосфора и др. Так, биохимический анализ сывороточного кальция показал, что введение цитрата кальция максимально повышает его уровень и разница с контролем в II опытной группе составляет 48,2 % ( $P \leq 0,05$ ). Второе место по количеству кальция в сыворотке крови занимает I опытная группа, получавшая хлорид кальция, при разнице с контролем 32,6 % ( $P \leq 0,001$ ). Повышение дозы доломитовой муки (III группа) не влияет на уровень кальция в сыворотке, который в этой группе близок к контрольному значению. Динамика уровня магния в сыворотке крови имеет схожую тенденцию (таблица 3).

Таблица 3 – Концентрация химических элементов в сыворотке крови цыплят-бройлеров, ммоль/л

Группа	Магний	Кальций,	Фосфор
I опытная	1,07±0,11**	4,84±0,21***	0,72±0,06
II опытная	1,37±0,1**	5,41±0,67*	0,82±0,07
III опытная	0,77±0,05	3,57±0,28	0,56±0,12
Контрольная	0,64±0,03	3,65±0,08	0,82±0,05

Примечание: \* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,05$ ), \*\* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,01$ ), \*\*\* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,001$ )

Одним из депо макро и микроэлементов в организме является костная ткань. Распределение элементов в костной ткани опытных групп, относительно контрольных значений имеет свою динамику. Так, в I опытной группе уровень Са достоверно возрастает на 8,13 % ( $P \leq 0,01$ ), уровень Р достоверно повышается на 12,65 % ( $P \leq 0,001$ ). При введении цитрата кальция (II группа) уровень Са достоверно падает на 22,94 % ( $P \leq 0,05$ ), уровень Р не меняется. В III опытной группе уровень Са и Р достоверно падает на 11,95 % ( $P \leq 0,05$ ), и 13,22 % ( $P \leq 0,001$ ) (табл. 4).

Таблица 4 – Концентрация химических элементов в костной ткани цыплят-бройлеров, мг/кг

Группа	Магний	Кальций	Фосфор
I опытная	1618,0±131,1*	66737,6±176,4**	36582,2±146,5***
II опытная	1273,2±91,9	47560,8±366,4*	26335,5±210,1
III опытная	1232,0±112,4	54346,6±892,2*	28181,5±138,5***
Контрольная	1198,6±75,5	61722,1±593,1	32473,0±175,7

Примечание: \* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,05$ ), \*\* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,01$ ), \*\*\* – достоверная разница опытных групп с контрольной ( $P \leq 0,001$ )

Таким образом, применение кальция в виде хлорида способствовало лучшему его усвоению, что обусловило хорошую минерализацию костной ткани.

### Заключение

Сравнительная оценка эффективности применения различных источников (хлорид, цитрат, карбонат) кальция показала наличие особенностей в его метаболизме и усвоении, что повлияло на живую массу и концентрацию минералов в сыворотке и костной ткани. В эксперименте при одинаковой питательной ценности рациона получен разный уровень продуктивности. Во всех опытных группах наблюдается тенденция к увеличению живой массы, максимальный уровень которой зафиксирован при использовании хлорида и цитрата кальция. Указанные источники кальция обеспечили его высокое содержание в биосубстратах (сыворотке и костной ткани). Увеличение дозы внесения доломитовой муки (карбонат кальция) не отразилось на цифрах концентрации кальция в организме цыплят-бройлеров.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ 23-16-00165.*

### Литература

1. Андрианова Е., Егоров И., Григорьева Е., Кривошипина Л. Эффективный источник доступного кальция для птицы. Комбикорма. 2019, 2:60–63.
2. Ахполова В.О., Брин В.Б. Обмен кальция и его гормональная регуляция. Журнал фундаментальной медицины и биологии. 2017, 2:15–23.
3. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гришина Т.Р., Лисица А.В. Перспективы использования препаратов на основе органических солей кальция. молекулярные механизмы кальция. Лечащий врач. 2013, 4:42.
4. Нурымхан Г.Н., Аринова Э.Ж. Технология и функциональное использование в виде порошка яичной скорлупы. В сборнике: Качество продукции, технологий и образования Материалы X Международной научно-практической конференции. 2015, 63–67.
5. Осипенко О.В., Вахлова И.В. Клинические и лабораторные признаки дефицита кальция у подростков, методы коррекции. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2008, 2 (20):118–122.
6. Ромашко А.К., Ерашевич В.С. Влияние различных кормовых источников кальция на качество яиц кур-несушек. В сборнике: Сельское хозяйство – проблемы и перспективы сборник научных трудов. Гродно, 2016, 166–171.
7. Ротштейн С. Микроэлементы в рационах кур-несушек: 5 фактов, почему вам следует использовать хелатные микроэлементы. Эффективное животноводство. 2021, 2(168):64–67.
8. Рубинов А.А., Мохова Е.В. Биодоступность кальция и фосфора в организме животных и влияние на их продуктивность. В сборнике: Химия и жизнь Сборник XVII Международной научно-практической студенческой конференции. 2018, 130–133.
9. Суховольская Н.Б., Исаенко А.Н., Суховольский О.К. Инвестиционная стратегия устойчивого развития птицефабрик. Известия Международной академии аграрного образования. 2020, 52:142–145.
10. Chirayath M.V., Gaidzik L., Hulla W. Vitamin D increases tight-junction conductance and paracellular Ca<sup>2+</sup> transport in CaCo-2 cell cultures. Am J Physiol. 1998; 274 (2 Pt 1): 389–396.
11. Herrmann B.L., Schmid K.W., Goerges R., Kemen M., Mann K. Calcitonin screening and pentagastrin testing: predictive value for the diagnosis of medullary carcinoma in nodular thyroid disease. Eur J Endocrinol. 2010, 162(6):1141–5.
12. José Luis Millán. Alkaline Phosphatases: Structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes Purinergic Signalling. 2006–06., 2(2):335–341. – ISSN 1573–9546 1573–9538, 1573–9546. – doi:10.1007/s11302–005–5435–6.
13. Zhao S.C., Teng X.Q., Xu D.L., Chi X., Ge M., Xu S.W. Influences of low level of dietary calcium on bone characters in laying hens. Poult Sci. 2020, 99(12):7084–7091. doi: 10.1016/j.psj.2020.08.057.

**НОВЫЙ ПЛАВЛЕННЫЙ СЫР «СЫРМЕ»****О.Н. Мусина<sup>1,2</sup>, Е.М. Нагорных<sup>1</sup>, Н.И. Бондаренко<sup>2</sup>***Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова  
Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, Барнаул, Россия*

Указом Президента поставлена задача обеспечения независимости страны по всем основным видам продовольствия, для чего необходимо увеличить глубину переработки сырья животного происхождения и расширить ассортимент продуктов с улучшенными качественными характеристиками.

В рамках решения этой задачи нами разработана технология плавленого сыра с обогащающими компонентами. Изучены характеристики образцов плавленых сыров со следующими наполнителями: порошок клубники, молотый грецкий орех, сироп ирги, мёд, манго сушеное без сахара, сушеные молотые томаты, клетчатка пшеничная, лецитин, очищенные овсяные отруби, ростки ячменя, пшеничные отруби, бетулин, какао, гидролизированный коллаген.

С учетом органолептических характеристик конечной продукции определена номенклатура компонентов, рекомендуемых к использованию в рецептуре плавленого сыра: это гидролизированный коллаген, лецитин подсолнечника и пшеничные отруби. Лецитин является источником фосфолипидов, отруби обогащают продукт пищевыми волокнами, а гидролизированный коллаген является ценным вторичным белоксодержащим сырьем. Гидролизированный коллаген представляет собой смесь низкомолекулярных пептидов, которые могут быть получены путем ферментативного гидролиза в кислых или щелочных средах. Аминокислотный состав коллаген уникален – гидроксипролин и гидроксизин встречаются только в пептидах коллагена, кроме того, коллаген богат глицином (33 %), пролином и гидроксипролином (22 %) [1, 2]. Гидролизированный коллаген обладает антиоксидантными и антимикробными свойствами, способствует повышению биодоступности кальция.

На основании пробных варок сыра и оценки его реологических характеристик обосновано рекомендуемое количество внесения наполнителей (гидролизированный коллаген, пшеничные отруби, лецитин подсолнечника) – 3,06–3,10 % от массы смеси для плавления, а также режим подготовки наполнителей к внесению в смесь для плавления. Выявлено отсутствие пиков предела прочности при погружении прямого горизонтального индентора со скоростью 10 мм/с в образцы плавленого сыра на глубину 50 мм [3]. Изучен аминокислотный состав нового сыра и его микроструктура.

В исследованиях показан обогащающий эффект от использования гидролизованного коллагена, лецитина подсолнечника и пшеничных отрубей в составе плавленых сыров, получены зависимости структурно-механических характеристик смесей для плавления от дозировки коллагена, продемонстрировавшие его высокую растворимость, термостабильность и специфические свойства (вязкость, адгезия), позволяющие рекомендовать к использованию в технологии плавленых пастообразных сыров коллагенсодержащее сырье.

В результате исследования разработана и утверждена нормативно-техническая документация на новый плавленый сыр «Сырме» – стандарт организации (СТО 02067824–0006–2023) и технологическая инструкция (ТИ), проведена выработка пробной партии в условиях промышленного производства (ООО «Сибирское подворье», Барнаул) и технология внедрена в производство.

**Литература**

1. León-López A., Morales-Peñaloza A., Mar-tínez-Juárez V.M., Vargas-Torres A., Zeugolis D.I., Aguirre-Álvarez G. Hydrolyzed Collagen – Sources and Applications // *Molecules*. – 2019. – 24(22):4031. <https://doi.org/10.3390/molecules24224031>
2. Gulevsky A.K., Shcheniavsky I.I. Collagen: structure, metabolism, production and industrial application // *Biotechnol. Acta*. – 2020. – Vol. 13. – № 5. – P. 42–61. <https://doi.org/10.15407/biotech13.05.042>
3. Мусина О.Н., Нагорных Е.М. Влияние коллагена на структурно-механические характеристики плавленого сыра // *Ползуновский вестник*. – 2023. – № 2. – С. 112–118. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072–8921.2023.02.014>

## СУММАРНОЕ СОДЕРЖАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ ЛИСТЬЕВ ОБЛЕПИХИ И СМОРОДИНЫ

Э.В. Сынгеева, Г.П. Ламажапова, Б.Ж. Ламаханова, А.А. Шенаршеева

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, Улан-Удэ, Россия

Одним из богатейших источников биологически активных веществ (БАВ) является уникальное растение – облепиха крушиновидная (*Hipporhae rhamnoides L.*). Богатый состав БАВ в этом растении подтверждается наличием: витаминов, в том числе аскорбиновой кислоты (С), группы В, А, Е, Н, РР; микроэлементов, среди которых Fe, Zn, В, Cu, Mg, Са и К; до 10 % танина; пектинов; серотонина; флавоноидов; органических кислот, среди которых выделяются олеиновая, урсоловая и тритерпеновая, участвующих в восстановлении клеток; фитонцидов; кумаринов. Исследования Васильевой Н.А. (2016) с коллегами из ФГБНУ «Бурятский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» (г. Улан-Удэ) биохимического состава плодов бурятских сортов облепихи показало, что условия экстремального климата республики Бурятия способствуют более повышенному содержанию витаминов, полифенольных соединений, сахаров, кислот, сухих веществ в исследуемых образцах. Еще одним из перспективных растительных объектов для биотехнологий являются листья смородины черной (*Ribes nigrum L.*). На основе исследований обнаружено, что листья смородины содержат витамины, флавоноиды, дубильные вещества, органические кислоты, эфирное масло, минеральные соли.

Листья черной смородины были собраны в конце фазы плодоношения, с экземпляров, выращенных на открытом грунте в климатических условиях Иволгинского района Республики Бурятия. Листья облепихи крушиновидной были собраны в с. Ацула Селенгинского района Бурятии в фазе массового созревания плодов – 3-й фенологической фазы. Образцы листьев смородины и облепихи были высушены при комнатной температуре без доступа солнечного света. Для получения водно-спиртовых экстрактов подготовленный растительный материал был измельчен до размера частиц 1 мм. Как известно, кумарины и флавоноиды лучше всего извлекаются при 80 °С, а аскорбиновая кислота – при температуре 20 °С. Поэтому для обеспечения большего выхода всех БАВ и обеспечения максимального содержания антиоксидантов в полученных экстрактах была использована дробная мацерация. С целью сохранения аскорбиновой кислоты навеска заливалась этиловым спиртом различной концентрации (t = 20 °С) в соотношении 1:10 и хранилась в темном месте 5 суток. Затем экстракт отфильтровывался (вытяжка 1). Шрот повторно заливался спиртом такой же концентрации и экстрагировался на водяной бане при постоянном перемешивании при температуре 80 °С в течение 30 минут. Второе извлечение было также отфильтровано (вытяжка 2). Затем вытяжку 1 и вытяжку 2 соединяли и в объединенных экстрактах облепихи и смородины было определено суммарное содержание антиоксидантов (ССА) амперометрическим методом на приборе «Цвет Яуза-01-АА». Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 Суммарное содержание антиоксидантов экстрактов облепихи и смородины

Сырье	Концентрация этанола			
	40 %	50 %	60 %	70 %
Листья облепихи	18,33±0,14	18,49±0,12	19,26±0,15	17,88±0,13
Листья смородины	29,43±0,22	32,76±0,20	30,76±0,32	15,60±0,12

Из данных таблицы 1 видно, что наибольшее содержание ССА определялось в листьях смородины, экстрагируемого 50 % этанолом, а в экстрактах листьев облепихи – экстрагируемого 60 % этанолом.

Разработка экстрактов из листьев облепихи и смородины, содержащих максимальное количество биологически активных веществ, для создания функциональных добавок может являться одним из перспективных способов переработки растительного сырья республики Бурятия.

## ИЗУЧЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ РЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ГРУНТА

*А.А. Худокормов, Е.В. Моисеева, А.А. Самков, Н.Н. Волченко*

*Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия*

Широко признано, что нефть и нефтепродукты, представляют огромную угрозу и могут вызывать различные токсикологические проблемы со здоровьем у людей, растений и животных сообществ [1]. Загрязнение почв нефтью и продуктами ее переработки также оказывает пагубное действие на основные свойства почвы (физические, химические, морфологические, биологические) [2], а негативно влияет на численность, содержание и распределение почвенных микроорганизмов. Использование микробных биопрепаратов для биоремедиации один из наиболее экологичных способов ликвидации нефтяного загрязнения. В процессе ремедиации структура природного микробного сообщества может претерпевать значительные изменения под действием бактерий-интродуцируемых с биопрепаратом, что может сказываться на эффективности работ [3]. Помимо этого, оказывается непоправимый вред естественному микробиому почв, за счет формирования нетипичных для данных почв комплексов грибов, бактерий [4]. Нефтеокисляющие биопрепараты, используемые для очистки почв от загрязнений нефтью и продуктами ее переработки, помимо непосредственного эффекта, зачастую оказывают косвенное влияние на микробиом почв. При использовании биопрепаратов происходит интервенция их микроорганизмов в аборигенную микрофлору почв, что может привести к: полному изменению биоразнообразия и угнетению естественного микробиома почв. В связи с этим было решено исследовать влияние коммерческих биопрепаратов на аборигенную микрофлору, путем изучения изменения ее биоразнообразия через сутки, трое суток и через неделю после внесения биопрепаратов.

Для изучения влияния применяемых коммерческих нефтеокисляющих биопрепаратов на биоразнообразие гетеротрофного микробиома почв, при их интродукции, проводилось исследование взаимовлияния консорциумов микроорганизмов, входящих в состав нефтеокисляющих биопрепаратов и аборигенной микрофлоры. В процессе работы проводили исследование со следующими углеводородокисляющими биопрепаратами: «Микрозим(tm) Петро Трит», «EcoSave», «Bioxumin oil», «Multibac Active»; в качестве источника аборигенной микрофлоры использовали минеральный грунт. При исследовании выявили как положительную, так и отрицательную динамику биоразнообразия. Увеличение биоразнообразия микробиоты отмечено при использовании биопрепаратов «Bioxumin oil» и «Multibac Active», а при применении биопрепаратов «Микрозим(tm) Петро Трит» и «EcoSave» наблюдали общее снижение биоразнообразия. Исходя из этого, можно сделать вывод, что аборигенные микроорганизмы образца грунта положительно взаимодействовали с биопрепаратами «Bioxumin oil» и «Multibac Active», а биопрепараты «Микрозим(tm) Петро Трит» и «EcoSave» снижали видовое разнообразие микробиоты, что может свидетельствовать об антагонистических взаимоотношениях.

### Литература

1. Идрисова Д.Т., Мухамедова Н.С., Жусупова Б.К., Жумадилова Ж.Ш., Шорабаев Е.Ж. Изучение влияния органоминеральных удобрений на очистку почв с разной степенью нефтезагрязнения в лабораторных условиях // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – С. 14–21.
2. Васильева Ж.В., Горбовская Т.Д., Павлов А.В. Рекультивация нефтезагрязненных почв с использованием органических отходов в условиях Кольского Севера // Вестник Мурманского государственного технического университета. – 2019. – Т. 22. – № 1. – С. 72–82.
3. Шаталина Е.С., Худокормов А.А., Карасёва Э.В., Моисеева Е.В., Самков А.А., Волченко Н.Н., Гасюк О.А. Деструкция легкой нефти коммерческими нефтеокисляющими биопрепаратами в присутствии аборигенной микрофлоры // Материалы 3-го Российского микробиологического конгресса. – Псков., 2021. – С. 284–285.
4. Шаниязова А.Ф., Аиткулова А.И., Нафикова Э.В. Анализ современных биологических методов восстановления нефтезагрязненных земель // Наука, образование, производство в решении экологических проблем: Материалы XVIII Международной научно-технической конференции. – Уфа., 2022. – С. 230–233.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ КИШЕЧНЫХ БАКТЕРИЙ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ В ЖИДКОМ АЗОТЕ

**Л.В. Заломова, Е.Е. Фесенко**

ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

Проблема длительной высокоэффективной криоконсервации сложных микробных сообществ, населяющих желудочно-кишечный тракт человека, на сегодняшний день в мире не решена. Методы криоконсервации микроорганизмов в основном разработаны для сохранения индивидуальных бактериальных культур. Проведены исследования по оценке выживаемости целевых видов бактерий микробиоты кишечника человека в процессе криоконсервации в жидком азоте с использованием перспективной криозащитной комбинации – ФСК (фетальная сыворотка коров) +5 % ДМСО (Табл. 1). ФСК, используемая только для сохранения эукариотических клеток, была впервые применена к бактериальным ассоциациям с высокой (>80 %) выживаемостью всей донорской микробиоты при криоконсервации. Показана высокая эффективность применения данной двухкомпонентной криозащитной композиции при криоконсервации панели культур аэробных (*Acinetobacter johnsoni*), факультативно-анаэробных (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*), микроаэрофильных (*Lactobacillus plantarum*) и облигатно-анаэробных бактериальных культур (*Bifidobacterium breve*), различающихся по составу клеточной стенки (грамтрицательные, грамположительные). Исследование сохранности кишечной микробиоты оценивали 3 методами: флуоресцентный анализ LIVE/DEAD, культивирование на микропланшете с фотометрическим измерением роста культуры и традиционное микробиологическое культивирование, которые продемонстрировали выживаемость от 72 до 98 % исходного количества клеток. Все три метода показали высокую корреляцию между собой. Подход с использованием комбинации двух равноэффективных криопротекторов увеличивает шансы на успешную криоконсервацию микробного сообщества в целом.

Таблица 1. Жизнеспособность 5 видов бактериальных культур после криоконсервации, культивирование на планшете (n=3). \* – отличия достоверны при сравнении с 5 % ДМСО, согласно критерию Манна–Уитни

Название вида	NaCl	5 % ДМСО		10 % ФСК	25 % ФСК	50 % ФСК	75 % ФСК	ФСК
<b>E.coli</b>	<b>90±1,2</b>	<b>94±2,0</b>	Без ДМСО	<b>92±0,5</b>	<b>93±1,0</b>	<b>92±3,0</b>	<b>93±2,3</b>	<b>96±1,7</b>
			+ 5 % ДМСО	<b>90±1,0</b>	<b>90±1,7</b>	<b>93±2,0</b>	<b>96±1,5</b>	<b>98±1,0</b>
<b>E. faecalis</b>	<b>88±2,0</b>	<b>95±1,4</b>	Без ДМСО	<b>90±3,0</b>	<b>92±1,5</b>	<b>93±2,0</b>	<b>98±1,0</b>	<b>99±1,0</b>
			+ 5 % ДМСО	<b>95±2,0</b>	<b>97±3,5</b>	<b>96±2,0</b>	<b>96±2,0</b>	<b>99±0,5</b>
<b>L. plantarum</b>	<b>81±1,3</b>	<b>87±1,5</b>	Без ДМСО	<b>86±3,2</b>	<b>86±3,0</b>	<b>87±1,5</b>	<b>88±1,6</b>	<b>90±3,5</b>
			+ 5 % ДМСО	<b>91±2,0</b>	<b>90±1,5</b>	<b>90±1,8</b>	<b>92±3,0</b>	<b>93±2,0</b>
<b>A. johnsoni</b>	<b>83±1,2</b>	<b>95±2,0</b>	Без ДМСО	<b>90±3,0</b>	<b>92±4,0</b>	<b>95±1,5</b>	<b>98±1,3</b>	<b>98±0,5</b>
			+ 5 % ДМСО	<b>92±2,3</b>	<b>92±1,0</b>	<b>93±1,3</b>	<b>97±1,0</b>	<b>96±1,2</b>
<b>B. breve</b>	<b>47±1,5</b>	<b>69±4,0</b>	Без ДМСО	<b>65±1,6</b>	<b>67±2,0</b>	<b>88±4,8</b>	<b>87±3,5</b>	<b>88±1,3*</b>
			+ 5 % ДМСО	<b>63±2,5</b>	<b>65±3,0</b>	<b>78±6,0</b>	<b>78±5,5</b>	<b>82±4,8*</b>

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЮПИНА В СОСТАВЕ КОМБИКОРМОВ

*С.Ф. Яковлева, Е.А. Мотина, А.Н. Яковлев*

*Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

В основе современного животноводства лежит рациональное кормление животных. Эта задача решается путем создания биологически эффективных и недорогих кормов.

Важнейшим фактором, обеспечивающим повышение продуктивности животных, является полноценное сбалансированное кормление.

Повышение биологической ценности комбикормов возможно путем применения в них биологически активных веществ. Использование в комбикормах добавок биологически активных веществ способствует максимальной продуктивности животного при минимальных затратах.

Применяемые в кормлении животных биологически активные вещества различны по своему действию и химической природе. Аминокислоты, витамины, макро- и микроэлементы повышают полноценность рационов. Антиоксиданты предупреждают снижение качества корма. Такие вещества, как ферменты, влияют на обмен веществ, усвояемость кормов и деятельность многих желез внутренней секреции. Антибиотики, про- и пребиотики регулируют деятельность симбиотической микрофлоры. Лекарственные вещества вводятся для профилактики инфекционных и инвазионных заболеваний.

В настоящее время особое значение при откорме сельскохозяйственных животных, в том числе крупного рогатого скота, придается использованию в рационах различных кормовых добавок, сбалансированных по белковому, жировому, углеводному и витаминному составу. При использовании сбалансированных по всем питательным веществам комбикормов продуктивность животных повышается на 10–12 %.

Мировым лидером по использованию в качестве белковых кормовых добавок до настоящего времени остаются продукты переработки сои, но как возможные варианты решений обозначенного сырьевого вопроса изучаются также такие потенциальные источники белка, как вторичные продукты переработки семян бахчевых, амаранта, льна, орехов и других нетрадиционных культур.

В последнее время большую популярность приобретают естественные кормовые добавки, которые содержат в оптимальном для организма сочетании комплекс биологически активных веществ – природных соединений, оказывающих положительное влияние на биологические процессы в живом организме, что обеспечивает высокую продуктивность животных.

В качестве традиционных источников пищевых и биологически активных веществ используются вещества животного, растительного и микробиологического происхождения. Наиболее эффективными и экономически целесообразными являются кормовые добавки растительного происхождения.

Среди добавок растительного происхождения, которые удовлетворяют требованиям по сбалансированности состава макронутриентов и биологически активных веществ, наибольшее внимание заслуживают люпин, мука и масло зародышей пшеницы, люцерна, тыквенный жмых.

В последние годы роль люпина в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы резко возросла, поскольку только он и соя могут обеспечить потребность высокопродуктивных пород в белке. Люпин отличается неприхотливостью к условиям произрастания, не требует высоких доз минеральных удобрений, способен производить значительные объемы зеленой массы и зерна с высоким содержанием белка в них (35–45 % в зерне и 18 – 20 % в зеленой массе) при низкой себестоимости производства. Кроме высокого содержания белка, зерно и зеленая масса люпина содержат большое количество жиров, состоящие из ненасыщенных жирных кислот, углеводы, минеральные вещества, витамины и другие соединения, необходимые при кормлении животных.

Белок люпина отличается высоким содержанием незаменимых аминокислот. Среди зернобобовых культур люпин имеет наименьшее количество веществ, ингибирующих действие протеолитических ферментов – трипсина и химотрипсина. Поэтому переваримость его питательных веществ, особенно белка, достаточно высока. По биологической ценности белок люпина не уступает сое и некоторым кормам животного происхождения, а после проведения термообработки превосходит белок куриного яйца.

УДК 004.65:663

**СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ****А.А. Досаев, Н.В. Меньшутина***Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия*

Биотехнология на сегодняшний день является активно развивающейся научно-технической отраслью. Ферментеры или биореакторы – инженерные устройства, предназначенные для культивирования биологических объектов (клеток, тканей, организмов) в контролируемых условиях [1]. Как известно, данные устройства широко используются в различных областях деятельности человека: производстве химических веществ, ферментов, пищевой промышленности, фармпроизводстве, медицине, тканевой инженерии, биоочистке воды и почвы, а также используются в исследованиях и научных разработках. Множество специалистов-технологов на начальном этапе решения производственных или научных задач сталкиваются с проблемой быстрого выбора наиболее оптимального типа биореактора. На выбор биореактора влияет большое количество параметров, которые необходимо учитывать при проведении биотехнологического процесса (например: pH, температура, скорость перемешивания), что также усложняет данную проблему, представляя собой большое количество разнородной неструктурированной информации [2]. Для решения данной проблемы предложено создание информационной системы, позволяющей быстро подобрать тип биореактора для конкретной задачи, а также оперативно найти необходимые данные для осуществления протекания процесса и его дальнейшей оптимизации. В качестве итога первого этапа разработки информационной системы на рисунке 1 представлена краткая схема системного анализа. Пояснения к связям на схеме: одним из основных критериев выбора биореактора является возможность контроля и управления технологическими параметрами. Масштаб биореактора определяется в зависимости от конкретного применения (от промышленного производства ферментов и биокатализа до фармацевтического производства и биотехнологических исследований) и исходя из масштаба производства продукта. Информация для информационной системы будет собираться из обзоров, статей, лабораторных и технологических регламентов.



Рис. 1 Краткая схема системного анализа предметной области

**Литература**

1. Teworte S. et al. Recent advances in fed-batch microscale bioreactor design //Biotechnology Advances. – 2022. – Т. 55. – С. 107888.
2. Gaikwad V. et al. Design Schematics, Operational Characteristics and Process Applications of Bioreactors //Microbes in the Food Industry. – 2023. – С. 217–247.

## ПОГЛОЩЕНИЕ ВОДЫ ХЕМОСОРБЦИОННЫМИ ВОЛОКНАМИ В РАЗЛИЧНЫХ ИОННЫХ ФОРМАХ

А.В. Астапов<sup>1</sup>, О.И. Долматова<sup>2</sup>, Н.А. Попов<sup>1</sup><sup>1</sup>Военно-воздушная академия им. профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина, Воронеж, Россия<sup>2</sup>Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

Практическая значимость волокон как ионообменных материалов определяется их высокоразвитой активной поверхностью. Это облегчает доступ реагентов к активным центрам волокон. Удельная поверхность волокон достигает 130–400 м<sup>2</sup>/кг, что гораздо больше, чем для зернистых ионитов. Ионообменные волокна широко используются для химической и механической очистки водных систем. Процессы ионного обмена протекают на волокнах при поглощении ими воды, поэтому для объяснения механизма данных процессов необходимо знать состояние воды в фазе ионообменника.

Объектами исследования служили хемосорбционные волокна ВИОН КН-1 и КС-3 с функциональными группами – COOH и – SO<sub>3</sub> H, соответственно. Волокна переводили в Ni<sup>2+</sup> и Co<sup>2+</sup> формы.

Изотермы сорбции паров воды получали при 298 К выдерживанием навесок волокна над насыщенными растворами солей с различной активностью водяного пара (a<sub>w</sub>) до установления равновесия. Диапазон активности паров воды составлял от 0,111 до 0,980.

Полученные изотермы имеют s-образный вид. Каждая изотерма может быть разделена на три участка, что свидетельствует о разном механизме взаимодействия молекул воды с волокном при различном значении a<sub>w</sub>. При низкой активности паров наблюдается резкое увеличение сорбции воды. Это связано с гидратацией противоионов Ni<sup>2+</sup> и Co<sup>2+</sup>, а также функциональных групп волокна. При этом возникает монослой адсорбированных молекул воды, притягивающий дополнительные молекулы воды, которые образуют последующие слои, что отражается более пологим участком на изотермах сорбции в области средних значений активности паров. При высоких значениях a<sub>w</sub> наблюдается осмотическое поглощение воды.

Природа ионов Co<sup>2+</sup> и Ni<sup>2+</sup>, насыщающих волокна по-разному влияет на характер изотерм сорбции паров воды. Никелевая форма ВИОН КН-1 поглощает большее количество воды, чем Co<sup>2+</sup> форма во всем диапазоне активностей водяных паров. Для волокна ВИОН КС-3 наблюдается обратная картина. Количество воды, поглощаемой кобальтовой формой, превышает таковое для Ni<sup>2+</sup> формы.

Природа волокон и их функциональных групп также влияет на количественные характеристики воды. Изотермы сорбции паров воды ионными формами волокна КН-1 расположены выше, чем для аналогичных форм КС-3.

Из полученных изопиест вычислены значения свободной энергии Гиббса гидратации ионных форм волокон КН-1 и КС-3 по формуле:

$$\Delta G_{\text{гидр}} = nRT \ln a_w - RT \int_0^{a_w} n \, d \ln a_w$$

где n – количество моль воды на эквивалент фиксированных групп.

Величина  $\Delta G_{\text{гидр}}$  возрастает в следующем порядке:



Наибольшие изменения  $\Delta G_{\text{гидр}}$  для Ni<sup>2+</sup> и Co<sup>2+</sup> форм КН-1 наблюдается до сорбции 2,5 моль воды, а для этих же форм КС-3 до 3,5 моль воды на моль функциональных групп. Дальнейшее поглощение воды волокнами сопровождается незначительным изменением величины  $\Delta G_{\text{гидр}}$ .

Таким образом, количество воды поглощенное волокнами ВИОН КН-1 и КС-3 зависит от их ионной формы и от природы функциональных групп.

УДК 636.52/.58.082.2

**ДНК-ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПТИЦ****Л.Г. Коршунова, Е.И. Куликов, А.К. Кравченко, А.С. Комарчев, Р.В. Карапетян***Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН, Сергиев Посад, Россия*

В настоящее время одной из основных задач, стоящих перед отечественным птицеводством, для обеспечения продовольственной безопасности является повышение эффективности производства, которая напрямую зависит от улучшения племенных и продуктивных характеристик птицы отечественных пород и кроссов.

С этой целью активно проводятся исследования в области разработки методов селекции с использованием ДНК-технологий. В мировой практике активно ведется селекция с помощью SNP (single nucleotide polymorphism) – однонуклеотидного полиморфизма, который обуславливает различия между отдельными животными, популяциями и породами (1). Многие регионы по всему геному показали значительные различия в частоте аллелей между линиями птиц. Различия по частоте аллелей свидетельствуют об интенсивности селекции. Направленный отбор оказывает влияние на гетерозиготность популяции. Понимание генетических механизмов, приводящих к фенотипической дифференциации, требует идентификации областей в геноме, которые находились под давлением отбора. Большинство методов геномного анализа, разработанных для оценки аллельного разнообразия, основаны на расчете частот определенных аллелей, а также на неравновесии по сцеплению. Считается, что разработка технологии геномной оценки на современном уровне наиболее значительное из последних достижений в животноводстве. Современные методы находят применение при углубленном изучении отечественного генофонда домашних кур, SNP-сканирование позволяет оценить генетическое сходство особей и популяционную структуру пород. В текущий момент ведется активное обсуждение практического использования SNPs как дополнительного критерия при оценке воспроизводительных характеристик и прогноза яичной продуктивности на ранних этапах полового созревания промышленных пород кур (2,3).

Методом ПЦР-РВ ДНК кур исходных линий отечественного яичного кросса «СП 789» исследовали однонуклеотидный полиморфизм rs312312510 (замена А на G) в гене рецептора фолликулостимулирующего гормона (FSGR), приводящего к аминокислотной замене (лизина на аргинин) в рецепторе.

Показатели яичной продуктивности кур с генотипом AA были выше показателей кур с генотипом GG. Это подтверждает предположение о снижении яйценоскости у генотипа GG. Следовательно, для оптимизации селекционных процессов и улучшения продуктивных показателей кур кросса СП 789, целесообразно вести селекцию по полиморфизму rs312312510 в гене рецептора фолликулостимулирующего гормона. Рекомендуется выбраковывать петухов с генотипом GG и, по возможности, с генотипом AG, так как аллель G проявила себя как «ухудшатель» яичной продуктивности.

**Литература**

1. Коршунова Л.Г., Карапетян Р.В., Комарчев А.С., Куликов Е.И. Ассоциации однонуклеотидных замен в генах-кандидатах с хозяйственно полезными признаками у кур (*Gallus gallus domesticus* L.) (обзор). *Сельскохозяйственная биология*, 2023, 58(2): 205–222 (doi:10.15389/agrobiology.2023.2.205rus).
2. Куликов Е.И., Карапетян Р.В., Коршунова Л.Г., Комарчев А.С., Мартынова В.Н., Кравченко А.К. Влияние однонуклеотидной замены rs317093289 в гене рецептора фолликулостимулирующего гормона на продуктивность исходной линии породы плимутрок бройлерного кросса "Смена 9". *Птицеводство*, 2022, (11): 4–8 (doi:10.33845/0033–3239–2022–71–11–4–8).
3. Куликов Е.И., Карапетян Р.В., Коршунова Л.Г., Комарчев А.С., Малахеева Л.И., Мартынова В.Н., Кравченко А.К., Попов В.А., Дмитренко Д.М. Анализ полиморфизма rs315726646 в гене рецептора фолликулостимулирующего гормона у кур исходных линий мясного и яичного кроссов отечественной селекции. *Птицеводство*, 2023, (5): 8–13 (doi:10.33845/0033–3239–2023–72–5–8–13).

**БИОТЕХНОЛОГИЯ КИСЛО-СЛИВОЧНОГО МАСЛА «ЗАКУСОЧНОЕ»****О.И. Долматова<sup>1</sup>, А.В. Астапов<sup>2</sup>**<sup>1</sup>*Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*<sup>2</sup>*Военно-воздушная академия им. профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина, Воронеж, Россия*

Кисло-сливочное масло имеет специфические приятные кисломолочный вкус и запах, обусловленные наличием молочной кислоты и ароматообразующих веществ (диацетила и ацетоина, летучих жирных кислот), образующихся в результате жизнедеятельности молочнокислых бактерий в процессе биологического сквашивания сливок. Отличительными операциями технологии кисло-сливочного масла по сравнению со сладко-сливочным, являются приготовление и использование бактериальной закваски и ее концентратов, биологическое сквашивание.

Сущность биологического сквашивания сливок заключается в ферментации находящейся в сливках лактозы с помощью молочнокислых бактерий. В результате этого в них накапливаются комплекс ароматообразующих веществ и молочная кислота. Последняя оказывает консервирующее действие, подавляет развитие гнилостных бактерий, чувствительных к кислой реакции. При выработке кисло-сливочного масла используют гомоферментативные молочнокислые бактерии, образующие молочную кислоту, а также, гетероферментативные ароматообразующие бактерии, которые кроме молочной кислоты в значительных количествах образуют продукты брожения – уксусную и пропионовые кислоты, диацетил, этилуксусный эфир и т. д. Выраженность вкуса и запаха кисло-сливочного масла регулируют использованием штаммов бактерий с заданным соотношением аромато- и кислотообразующих.

Масло сливочное с вкусовыми компонентами имеет пониженную калорийность. Продукт характеризуется более сбалансированным химическим составом и повышенной биологической ценностью, по сравнению с маслом сливочным без добавления немолочных компонентов [1, 2]. Правильный выбор вкусовых компонентов способствует получению продукта улучшенного качества, увеличению его сроков годности [3, 4].

Выработаны образцы масла кисло-сливочного с вкусовыми компонентами по традиционной технологии с дополнительной операцией – внесение вкусовых компонентов. Получены два образца масла. Образец № 1 – контрольный без вкусовых компонентов, образец № 2 – содержал немолочные компоненты: йодированную соль; овощи сушеные; зелень сушеную, специи молотые. Состав вносимой добавки позволяет называть кисло-сливочное масло «Закусочное». Изучены органолептические, физико-химические и микробиологические показатели готовых образцов масла. Установлен высший сорт выработанных образцов. Масло кисло-сливочное «Закусочное» имеет кисло-сливочный вкус, соленый, с привкусом и запахом вносимых компонентов, желтого цвета с включением частиц компонентов, массовую долю жира 62 %, показатель термоустойчивости – 0,76. Установлено, что добавление вкусового компонента способствует формированию плотной структуры кисло-сливочного масла, стойкому хранению его жировой фракции, равномерному распределению плазмы масла. Продукт имеет улучшенные показатели качества.

**Литература**

1. Долматова О.И., Рогова А.А. Масло сливочное «Деликатесное» // Вестник ВГУИТ. 2022. Т. 84. № 3. С. 142–146. doi:10.20914/2310-1202-2022-3-142-146.
2. Долматова О.И., Рогова А.А. Масло сливочное «Десертное» // Вестник ВГУИТ. 2021. Т. 83. № 2. С. 148–153. doi:10.20914/2310-1202-2021-2-148-153.
3. Долматова О.И., Сидельников Е.М. Влияние вкусовых компонентов на сохранность масла сливочного // Вестник ВГУИТ. 2022. Т. 84. № 3. С. 147–151. doi:10.20914/2310-1202-2022-3-147-151.
4. Долматова О.И., Панченкова К.А. Изучение качества масла сливочного с вкусовыми компонентами // Вестник ВГУИТ. 2020. Т. 82. № 3. С. 215–220. doi:10.20914/2310-1202-2020-3-215-220.

УДК 615.322

АНТИКОАГУЛЯНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ РОДА *FILIPENDULA*

Е.В. Соколова, Т.А. Кроль, Ю.М. Миняева, Е.Р. Никонорова

Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений, Москва, Россия

Развитие в областинутрицевитическим продуктам питания привел к толчку в изучении полифенольных соединений растительного происхождения. Растения рода *Filipendula* (*Rosaceae*) относятся к терапевтическим растениям, обладающим широким спектром применения в приготовлении продуктов питания. Перечень нарушений здоровья человека, при которых используются эти растения, включает преимущественно воспалительные заболевания, в то время как другие области терапевтических свойств изучены недостаточно [1].

Цель работы – изучение терапевтических свойств в области коагуляции крови экстрактов цветков и листьев растений рода *Filipendula* на примере четырех видов растений – *F. stepposa* (лабазник степной), *F. palmata* (лабазник дланевидный), *F. ulmaria* (лабазник вязолистный), *F. camtschatica* (лабазник камчатский). На сегодняшний день для исследования коагуляции крови используется несколько методов, из которых анализы свертывания обеспечивают всестороннюю оценку функции коагуляционного каскада. В представленном исследовании проводился анализ антикоагулянтного действия экстрактов листьев и цветков растений *F. stepposa*, *F. palmata*, *F. ulmaria*, *F. camtschatica* в тестах активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) и протромбинового времени (ПТВ) с помощью наборов фирмы ООО «РЕНАМ» под названием Коагулотест (ПГ-6) и ДИАГЕМ-П (ПГ-2), соответственно. Тесты проводились согласно инструкции производителя, за исключением прединкубации плазмы с экстрактами в течение 30 сек. В АЧТВ методе к цитратной плазме добавляют частичный тромбопластиновый реагент, состоящий из поверхностного активатора и разбавленного фосфолипида. После инкубации для активации факторов контакта и образования фактора IXа добавляют кальций, чтобы вызвать свертывание крови через внутренний и общий пути коагуляции. Наши результаты продемонстрировали, что экстракты цветков растений рода *Filipendula* были более сильными ингибиторами внутреннего пути коагуляции, чем экстракты из листьев и наиболее сильное ингибирующее действие было продемонстрировано экстрактами цветков *F. camtschatica* (при 1.25 мг/мл наблюдалось шестикратное увеличение АЧТВ).

Влияние экстрактов из листьев и цветков на внешний путь коагуляции оценивается с помощью анализа протромбинового времени. В этом тесте к цитратной плазме добавляют реагент тромбопластин, содержащий тканевой фактор и кальций. Образование внешней теназы приводит к быстрому образованию фибрина по внешнему и общему путям коагуляции. Так же как и для АЧТВ экстракты листьев были менее эффективными ингибиторами ПТВ, чем экстракты цветков растений *Filipendula* и самыми сильными ингибиторами оказались экстракты цветков *F. palmata*.

Таким образом, *F. stepposa*, *F. palmata*, *F. ulmaria*, *F. camtschatica* являются перспективными, с точки зрения, поиска природных веществ растительного происхождения с антикоагулянтными свойствами.

*Работа выполнена согласно Государственному заданию по теме FGUU-2022–0013.*

## Литература

1. García-Oliveira, P., Fraga-Corral, M., Pereira, A.G., Lourenço-Lopes, C., Jimenez-Lopez, C., Prieto, M.A., & Simal-Gandara, J. (2020). Scientific basis for the industrialization of traditionally used plants of the Rosaceae family. Food chemistry, 330, 127197.

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (QUERCUS ROBUR L.) НА МОРФОГЕНЕЗ В КУЛЬТУРУ IN VITRO****А.А. Тимаков, Р.В. Сергеев, А.Р. Хусаинова, В.А. Шургин, С.Е. Смирнова***Поволжский государственный технологический университет, Йошкар-Ола, Россия*

Дуб черешчатый является основным структурообразующим элементом таких биоценозов, как дубравы. Дубравы России в основном располагаются в европейской (3,52 млн га) и дальневосточной частях (2,46 млн га) [1]. Однако, представители рода *Quercus* подвержены множеству негативных факторов [2]. Малая эффективность семенного размножения дуба черешчатого на фоне снижения общей и удельной продуктивности дубрав является проблемой в мире и России в частности. Решить проблему можно применением современных методов биотехнологии и, в частности, культуры ткани *in vitro*, который характеризуется внесезонностью проведения исследований, реювенилизацией посадочного материала, высокой эффективностью [3].

Цель работы – получение стерильной хорошо растущей культуры *in vitro* зеленых неодревесневших черенков дуба черешчатого (*Quercus robur L.*) разных возрастных групп.

В качестве эксплантов использовались: для ювенильной стадии – двухмесячные сеянцы; для имматурной и генеративной – зеленые неодревесневшие побеги дуба черешчатого. Все экспланты очищали от механических загрязнений губкой с моющим средством и промывали трехкратно сначала водопроводной, а затем дистиллированной водой. Дальнейшие операции проводились в условиях ламинар-бокса. Экспланты помещали в 3 % раствор стерилизующего средства Лизоформин-3000. В зависимости от варианта опыта варьировал время экспозиции, раствор, используемый для промывания эксплантов и состав питательной среды (WPM или MS). Для удаления поврежденных стерилизующим веществом тканей на эксплантах обновляли все срезы. Культивирование вели в условиях световой комнаты. Подсчет зараженных, морфогенных и не морфогенных эксплантов проводили после одной недели культивации.

Экспланты, полученные из зеленых черенков дуба черешчатого разного возраста (ювенильная, имматурная, генеративная фазы) демонстрируют схожую морфогенность при выбранном режиме стерилизации – 5 мин 3 % раствор Лизоформина 3000 (от 87,5 % до 100 %). Зеленые, но уже частично одревесневшие черенки взрослого дуба показывают значительную долю заражения – 55,71 %. Оптимальная экспозиция зеленых черенков взрослого дуба черешчатого в 3 % растворе Лизоформина 3000 начинается от 4.5 мин., верхний предел установить не удалось. Полученные результаты можно использовать для разработки технологии размножения и выращивания саженцев дуба черешчатого *in vitro*.

**Литература**

1. Калининченко Н.П. Дубравы России / Н.П. Калининченко. – М.: ВНИИЦлесресурс, 2000. – 536 с.
2. Молчанов А.А. Воздействие антропогенных факторов на лес / А.А. Молчанов. – М.: Наука, 1978. – 136 с.
3. Хусаинова А.Р., Сергеев Р.В., Тимаков А.А. и др. Особенности Культивирования *Betula Spp.* В Культуре *In Vitro*. Леса России: материалы VII Всероссийской научно-технической конференции 25–27 мая 2022 г. / Под. ред. А.А. Добровольского. – Санкт-Петербург: СПбГЛТУ, 2022. – С. 378–380.

УДК 631.46:579.222.2

**ВЛИЯНИЕ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПОЧВ Г. КОГАЛЫМА  
НА РОСТОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОДНОДОЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ****А.С. Коробейникова, Е.П. Венедюхина, Д.М. Голубев, Е.В. Глинская***Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,  
Саратов, Россия*

Постепенное увеличение площади загрязненных нефтепродуктами сельскохозяйственных земель актуализирует задачи разработки экологически безопасных и экономически эффективных технологий очистки нефтезагрязненных почв с использованием современных биопрепаратов, ускоряющих процессы биоремедиации, разложения углеводородов нефти, восстановления плодородия и экологических сервисов агроландшафтов [1]. Известно, что бактерии могут играть важную роль в осуществлении процесса фиторемедиации [2]. Способности нефтедеструкторов влиять на рост растений уделяется недостаточное внимание. Данная работа посвящена изучению воздействия углеводородоокисляющих микроорганизмов на прорастание семян представителей однодольных растений.

Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского.

Объектом исследования являлись углеводородоокисляющие микроорганизмы, выделенные из почв антропогенно нарушенных территорий г. Когалыма Ханты-Мансийского автономного округа (ХМАО), Тюменской области – основного нефтегазоносного района России [3].

Для определения влияния бактерий *Bacillus alcalophilus*, *B. funiculus*, *B. halodurans*, *B. niacini*, *B. psychrodurans*, *Curtobacterium flaccumfaciens* на ростовые показатели растений в качестве тест-культуры использовали *Triticum aestivum* L. 1753. Исследование проводили по стандартной методике, согласно которой зерновки пшеницы обрабатывали 1 мл бактериальной суспензии в различных концентрациях, затем проращивали на фильтровальной бумаге при 28 °С в течение 5 суток [4].

Результаты показали, что суспензии изучаемых бактерий в концентрациях  $10^5$ ,  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл оказывали угнетающее воздействие на рост зародышевого стебля пшеницы, длина которого в среднем была в 4 раза меньше по сравнению с контролем. Ингибирующее влияние на морфометрические показатели зародышевого корня оказывали все бактерии, за исключением *B. psychrodurans*. Выраженный ростстимулирующий эффект наблюдался при обработке зерновок суспензией *B. psychrodurans* в концентрациях  $10^5$  и  $10^6$  КОЕ/мл, что вызывало увеличение длины зародышевого корня по сравнению с контролем в 1,2 раза.

Проведенное исследование углеводородоокисляющих бактерий, выделенных из проб почв г. Когалыма, открывает перспективы использования бактерий *B. psychrodurans* в качестве активных деструкторов нефтепродуктов на загрязненных сельскохозяйственных территориях.

**Литература**

1. Алонге О.О., Васнев И.И., Селицкая О.В. Влияние биопрепарата Псевдомин на биологическую активность и экологическое состояние нефтезагрязненных окультуренных дерново-подзолистых почв в условиях различного увлажнения // Агрохимический вестник. 2013. № 1. С. 5–9.
2. Влияние бактерий-деструкторов углеводородов нефти на прорастание и рост растений / М.Д. Бакаева, Е.В. Кузина, Г.Ф. Рафикова [и др.] // Экобиотех. 2019. Т. 2, № 2. С. 175–183.
3. Коробейникова А.С. и др. Численность микроорганизмов в составе почвенных микробиоценозов г. Когалым // Исследования молодых ученых в биологии и экологии: сборник научных статей. 2022. С. 57–58.
4. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов [и др.] – М.: Академия, 2005. – 608 с.

УДК 640

**БИОДЕГРАДАЦИОННАЯ СТРАТЕГИЯ ГРИБА БЕЛОЙ ГНИЛИ TRAMETES HIRSUTA 072 В ОТНОШЕНИИ ЭНДОКРИННЫХ РАЗРУШИТЕЛЕЙ – ЭФИРОВ ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ****Т.В. Фёдорова, А.В. Шабаев***Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

Эфиры фталевой кислоты (ЭФК, фталаты) – это сложные эфиры фталевой кислоты, широко используемые для производства мебели, одежды, косметики, детских игрушек, пищевых добавок, упаковки для пищевых продуктов, а также фармацевтических препаратов, медицинских приборов и т. д. [1]. Из-за такого широкого применения, а также сравнительного простого высвобождения в окружающую среду, фталаты являются одними из наиболее распространенных ксенобиотиков, с которыми люди контактируют ежедневно [2]. Попадая в организм человека различными путями, в основном через потребление пищи, воды, вдыхание частиц микропластика, фталаты могут оказывать негативное влияние на здоровье человека разрушая гормоны тем самым негативно влияя на всю эндокринную систему человека [3, 4]. При этом базидиомицеты белой гнили известны как эффективные биодеструкторы различных ксенобиотиков [5, 6]. Учитывая вышеизложенное, изучение способности базидиомицетов белой гнили разлагать фталаты, а также выявление механизмов деструкции фталатов, является крайне актуальной задачей.

**Материалы и методы**

Штамм базидиомицета *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 был получен из Коллекции культур Ботанического института им. В.Л. Комарова (Санкт-Петербург, Россия). В работе были использованы следующие реактивы: дибутилфталат (ДФБ), бутилбензилфталат (ББФ), диэтилгексилфталат (ДЭГФ) и диизобутилфталат (ДиБФ) фирмы “Sigma-Aldrich” (США). Другие материалы и растворители квалификации “х.ч.” и “ч.д.а.” были приобретены у российских производителей.

**Культивирование грибной культуры *T. hirsuta*.** Для получения инокулята грибную культуру культивировали на глюкозо-пептонной (ГП) среде следующего состава (г/л): пептон – 3.0; глюкоза – 10;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0.6;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  – 0.4;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0.5;  $\text{CaCl}_2$  – 0.5;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  – 0.05;  $\text{ZnSO}_4$  – 0.001;  $\text{FeSO}_4$  – 0.0005, при 25 °С в течении 10–14 суток в стационарных условиях.

Для изучения биодеградационной способности гриба в отношении различных соединений фталатов инокулят измельчали, стерильно вносили в колбы для культивирования в объеме 10 % и проводили жидкофазное культивирование глубинным способом на ГП среде при перемешивании со скоростью 180 об./мин и 27 °С. По окончании культивирования грибные пеллеты отделяли фильтрованием и промывали 0.02 %-ным стерильным водным раствором Твин 80, после чего 10 г. грибной биомассы стерильно переносили в конические колбы на 250 мл со 100 мл жидкой минеральной среды следующего состава (г/л):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0.6;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0.4;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0.5;  $\text{CaCl}_2$  – 0.05;  $\text{MnSO}_4$  – 0.05;  $\text{ZnSO}_4$  – 0.001;  $\text{FeSO}_4$  – 0.0005;  $\text{NaNO}_3$  – 3.0; глюкоза – 10.0; Твин 80 – 0.2. Перед внесением грибной биомассы в колбы добавляли растворы ЭФК в концентрации 1.0 г./л, инкубировали на роторной качалке при 100 об./мин и 25 °С в течение 10 дней. Для проведения экспериментов по изучению биосорбции соединений фталатов грибным мицелием, пеллеты предварительно инактивировали двумя способами: (1) термостатированием при температуре 55 °С в течение 24 ч и (2) инкубированием пеллет в минеральной среде с добавлением 1 %  $\text{NaN}_3$ , после чего в колбы с инактивированным мицелием вносили ЭФК и культивировали, как описано выше. Пробы культуральной жидкости (КЖ) отбирали на 1, 2, 3, 6 и 10 дни культивирования и определяли в них ферментативные активности (общую оксидазную и эстеразную) и остаточное содержание ЭФК с использованием газовой хроматографии с масс-спектрометрической детекцией (ГХ-МС).

Для сравнительного изучения протеомов и секретомов гриба в присутствии различных соединений ЭФК проводили жидкофазное культивирование глубинным способом на минеральной среде в течение 10 дней при перемешивании со скоростью 180 об./мин и 27 °С. По окончании культивирования грибной мицелий отделяли, измельчали и экстрагировали белки. КЖ концентрировали, отмывали от солей диафильтрацией и осаждали белки. Белки мицелия и КЖ разделяли с помощью двумерного электрофореза и идентифицировали с использованием MALDI-TOF-TOF масс-спектрометрического анализа.

**Газовая хроматография с масс-спектрометрической детекцией (ГХ-МС).** Гексановые экстракты образцов КЖ (1:1 об./об.) анализировали методом газо-жидкостной хроматографии в двух режимах: регистрация ионных масс в полном спектре (ТИС, диапазон масс  $m/z$  45–400) и регистрация по характерному для ЭФК основному иону (МИС,  $m/z = 149$  – протонированный фталевый ангидрид). Анализ проводили на газовом хроматографе GC-MS QP 2010 Ultra EI (“Shimadzu”, Япония), снабженном автоматическим устройством ввода пробы и квадрупольным масс-спектрометрическим детектором. Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения LabSolutions GCMSsolution (“Shimadzu”, Япония). Использовали колонку MDN-5 30 м × 250 мкм × 0.25 мкм (“Supelco”, США), в качестве подвижной фазы – гелий, скорость потока элюента – 1 см<sup>3</sup>/мин, деление потока 1 : 5. Объем вводимой пробы 1 мкл, температура термостата 120 °С, температура инжектора 200 °С. Температурный градиент: 120 °С выдержка 1 мин; с 120 до 280 °С со скоростью 10 °С/мин, изотерма 3 мин.

**Двумерный электрофорез.** Изоэлектрофокусирование белков проводили в градиенте pH от 3 до 10 с использованием системы для 2D электрофореза PROTEAN II XI 2-D Cell (Bio-Rad, США). Электрофорез образцов, полученных изоэлектрофокусированием, проводили в градиентном акриламидном геле (7,5–25 %) в присутствии додецилсульфата натрия при 300 В. Гели окрашивали раствором AgNO<sub>3</sub> (Sigma, США). Для получения белковых карт использовали систему гель-документации Infinity1000/26MX (Vilber Lourmat, Франция). Белковые карты анализировали с помощью программы ImageMaster 2D Platinum v. 7 (GE Healthcare, США).

**Масс-спектрометрический анализ белков протеома и секретома.** Полученные белковые пятна дополнительно анализировали с использованием масс-спектрометра Ultraflex II (Bruker, Германия) с матричным лазерным источником десорбции / ионизации и тандемным времяпролетным масс-анализатором (MALDI TOF/TOF MS/MS). Масс-спектры обрабатывали с помощью пакета программ FlexAnalysis 3.3 (Bruker Daltonics, Германия). Идентификацию белков проводили с помощью программы Mascot (www.matrixscience.com).

## Результаты

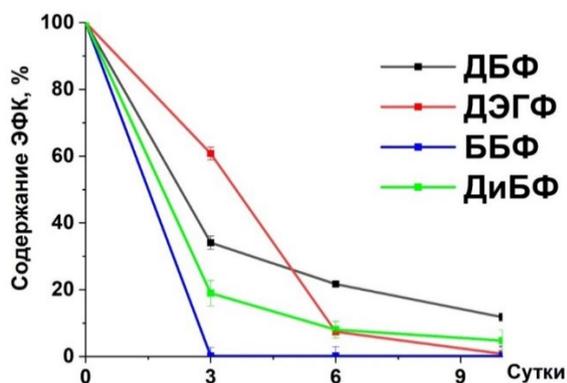


Рис. 1 Динамика биодеструкции различных эфиров фталевой кислоты культурой гриба *Trametes hirsuta* в течении 10-ти дневного культивирования на минимальной минеральной среде (ДБФ-дибутилфталат, ДЭГФ-ди (2-этилгексил) фталат, ББФ-бутилбензилфталат, ДиБФ-диизобутилфталат)

биомассы *T. hirsuta* по сравнению с контрольной средой без фталатов, при этом наибольшее ингибирование роста гриба было отмечено на среде с ББФ.

Эксперименты по изучению способности грибного мицелия сорбировать гидрофобные соединения ЭФК из культуральной среды, показали, что на 10 день инкубации инактивированных пеллет биосорбция ЭФК составляет от 80 до 90 % от их начального содержания в среде.

**Динамика биодеструкции ЭФК.** Показано, что гриб *T. hirsuta* способен эффективно разрушать все изучаемые соединения и уже к 10 суткам культивирования содержание всех ЭФК варьирует от 0,15 % до 11,8 % от их исходной концентрации в КЖ (Рис. 1). Скорость деструкции различных соединений фталатов снижается в ряду ББФ > ДиБФ ≈ ДЭГФ > ДБФ, и в общем случае коррелирует с длиной алкильной цепи и ее разветвленностью. При этом в процессе деструкции ЭФК показано достоверное повышение общей оксидазной и эстеразной активностей в КЖ гриба с фталатами по сравнению с контрольной минеральной средой. Причем высокая (по сравнению с контролем) эстеразная активность отмечена на 1–3 сутки культивирования, в то время как максимум оксидазной – на 6 сутки.

Анализ накопления грибной биомассы показал, что при глубинном культивировании в присутствии ЭФК, происходит снижение

**Определение состава секретомов и протеомов *Trametes hirsuta* при культивировании с различными фталатами.** Для определения и идентификации внеклеточных ферментов, участвующих в деструкции фталатов, было проведено исследование белков секретомы (экзопротеома) гриба *T. hirsuta* при его культивировании с изучаемыми соединениями ЭФК. Список идентифицированных белков представлен на рисунке 2.

Белок	Описание	Аббревиатура	ММ (контроль)	ММ+ББФ	ММ+ДиБФ	ММ+ДБФ	ММ+ДЭГФ
<b>Оксидоредуктазы</b>							
FUN_007004	Manganese peroxidase 2	MnP2	●	●	○	○	○
FUN_002850	Manganese peroxidase 5	MnP5	●	●	●	○	○
FUN_007983	Manganese peroxidase 7	MnP7	●	●	●	○	○
FUN_007604	Versatil peroxidase 2	VP2	●	○	○	○	○
FUN_007002	Lignin peroxidase 9	LiP9	●	●	●	○	○
FUN_007454	Manganese peroxidase 3	MnP3	●	○	○	○	○
FUN_007952	Manganese peroxidase 6	MnP6	●	○	○	○	○
FUN_007001	Lignin peroxidase 2	LiP2	●	○	○	○	○
FUN_001030	Laccase A	LacA	●	●	○	○	○
<b>Протеазы</b>							
FUN_006633	Protease S53	ProtS53_1	●	○	○	○	○
FUN_009440	Protease S53	ProtS53_2	●	○	○	○	○
<b>CAZy гидролазы</b>							
FUN_009362	Glycoside Hydrolase Family 15 with CBM20	GH15+CBM20	●	○	○	○	○
<b>Другие</b>							
FUN_002699	Amidase	Am	●	○	○	○	○
FUN_005650	Alpha/beta hydrolase family protein (PF00135)	α/β HFP	●	○	○	○	○
FUN_001506	The cell wall integrity and stress response	WSC	●	○	○	○	○
FUN_009768	Hypothetical protein	HP1	●	○	○	○	○

Рис. 2 Белки, идентифицированные в секретомы *Trametes hirsuta* при выращивании на средах с различными фталатами

Сравнительный анализ секретомы *T. hirsuta* показал, что основными белками, секретируемыми на средах со всеми фталатами, являются белки лигнолитического комплекса гриба, такие как лигнин пероксидазы (LiP), марганец пероксидазы (MnP), версатил пероксидаза (VP) и лакказы (LacA). При этом в зависимости от добавляемого фталата меняется как изоферментный состав лигнолитических ферментов, так и их относительные количества. Так изофермент лигнин пероксидазы LiP9 обнаруживается как на контрольной среде без добавления фталатов, так и в средах со всеми изучаемыми фталатами, однако, ее количество возрастает в средах с добавлением ДиБФ и ДЭГФ. Изофермент марганец пероксидазы MnP7 также обнаруживается как на контрольной среде без добавления фталатов, так и на средах со всеми изучаемыми фталатами, но заметное увеличение количества данного белка наблюдается только на среде с ББФ. Изофермент марганец пероксидазы MnP5 обнаруживается на всех средах за исключением среды с добавлением ДЭГФ, при этом содержание данного белка значительно возрастает на среде с добавлением ДиБФ. Изофермент марганец пероксидазы MnP2 обнаруживается в незначительном количестве только на среде с ББФ. Версатил пероксидаза VP2 обнаруживается на всех средах (за исключением среды с добавлением ББФ), при этом ее количество значительно возрастает в средах с добавлением ДиБФ и ДЭГФ. Изофермент лакказы LacA также обнаруживаются в значительных количествах (по сравнению с контрольной средой) на всех средах за исключением среды с добавлением ДЭГФ.

Считается, что внеклеточные ферменты грибов играют преобладающую роль в деградации ксенобиотиков, однако все большее количество исследований показывает, что внутриклеточная ферментативная система также является важным внутренним механизмом детоксикации и приспособляемости грибов к агрессивным условиям окружающей среды.

Для идентификации внутриклеточных ферментов гриба *T. hirsuta*, принимающих участие в метаболизме соединений ЭФК и продуктов их трансформации был проведен сравнительный анализ грибных протеомы. В протеомы в присутствии фталатов отмечено появление значительного количества таких белков как: ацетил эстераза / липаза Aes (COG0657); каталаза KatE (COG0753; КФ: 1.11.1.6); NADH: флавин оксидоредуктаза OYE32 (COG1902; КФ: 1.3.1.42); белки из семейства короткоцепочечных алкогольдегидрогеназ SDR (COG1028); альдокеторедуктазы AKR (COG0656); арилалкогольдегидрогеназы (COG0667); альдегиддегидрогеназы AdhE (COG1012; КФ: 1.2.1.3) и др.

В присутствии ББФ в протеоме были обнаружены также уникальные белки, такие как, как например, хинол монооксигеназа YgiN (COG1359). Предположительно, индукция данного фермента может быть адаптивной клеточной реакцией, направленной на минимизацию токсичности различных хиноновых соединений.

Таким образом, на основании идентифицированных в секретах и протеомах белках, можно заключить, что ферментативная деградация ЭФК базидиальным грибом *T. hirsuta* осуществляются в две фазы. Первая фаза включает процесс гидролиза сложного эфира фталевой кислоты при участии эстераз, в результате чего образуются фталевая кислота и соответствующие спирты. Затем фталевая кислота и метаболиты, образующиеся при разложении фталевой кислоты и спиртов, расщепляются декарбоксилазами / дегидрогеназами / оксидазами / оксигеназами во время второй фазы реакции.

### Заключение

Дереворазрушающий гриб белой гнили *Trametes hirsuta* способен эффективно разрушать различные эфиры фталевой кислоты и может быть использован для устранения загрязнений этих опасных ксенобиотиков из окружающей среды. При этом биodeградационная стратегия данного гриба включает взаимодополняемый комплекс неферментативных процессов, таких как биосорбция, и процессов, опосредованных комбинированным действием внеклеточных и внутриклеточных ферментных систем (Рис. 3).

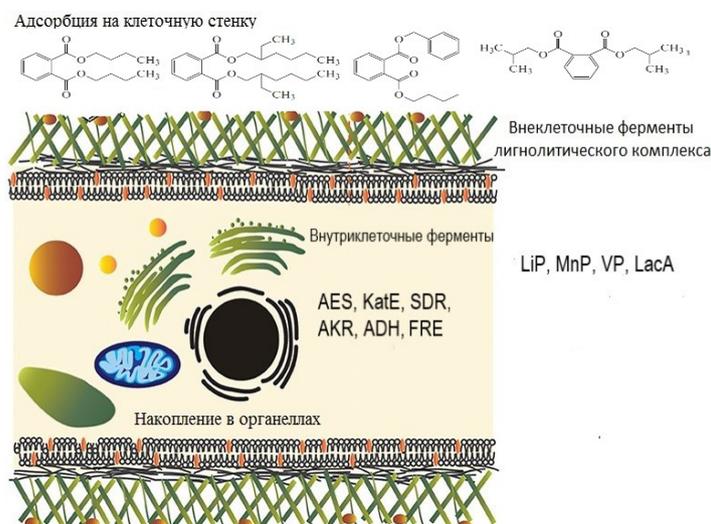


Рис. 3 Биodeградационная стратегия гриба *Trametes hirsuta* по отношению к различным ЭФК (AES – ацетил эстераза / липаза; KatE – каталаза; FRE – NADH: флаavin оксидоредуктаза; SDR – белки из семейства короткоцепочечных алкогольдегидрогеназ; AKR – альдокеторедуктазы; ADH – арилалкогольдегидрогеназы; LiP – лигнин пероксидаза; MnP – марганец пероксидаза; VP – версатил пероксидаза; LacA – лакказа А)

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-14-00306).*

### Литература

1. Tran H.T. et al. Phthalates in the environment: characteristics, fate and transport, and advanced wastewater treatment technologies // *Bioresource Technology*. – 2022. – V. 344. – P. 126249.
2. Net S. et al. Occurrence, fate, behavior and ecotoxicological state of phthalates in different environmental matrices // *Environmental Science & Technology*. – 2015. – Т. 49. – №. 7. – P. 4019–4035.
3. Giuliani A. et al. Critical review on the presence of phthalates in food and evidence of their biological impact // *International journal of environmental research and public health*. – 2020. – V. 17. – N. 16. – P. 5655.
4. Wang Y., Qian H. Phthalates and their impacts on human health // *Healthcare*. – MDPI, 2021. – V. 9. – N. 5. – P. 603.
5. Kathiravan A., Gnanadoss J.J. White-rot fungi-mediated bioremediation as a sustainable method for xenobiotic degradation // *Environmental and Experimental Biology*. – 2021. – V. 19. – N. 3. – P. 103–119.
6. Chatterjee A., Chakraborty P., Abraham J. Microbial Enzymes for the Mineralization of Xenobiotic Compounds // *Bioprospecting of Microorganism Based Industrial Molecules*. – 2021. – P. 319–336.

## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА РЕКОМБИНАНТНОЙ МУТАНТНОЙ ТАQ ПОЛИМЕРАЗЫ

П.В. Колосов<sup>1</sup>, Д.Н. Щербаков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», Барнаул, Россия

<sup>2</sup>ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

Большое практическое значение имеет внедрение в практику современных технологий культивирования продуцентов с целью получения рекомбинантных ферментов. Оптимизация процесса культивирования является эффективным методом повышения биосинтетической активности продуцентов. Оптимальные условия культивирования можно подобрать двумя способами: методом эмпирического подбора и с использованием методов математического планирования эксперимента [1].

Планирование эксперимента с использованием метода полного факторного эксперимента позволяет варьировать одновременно несколько факторов и получать количественные оценки как основных факторов, так и эффектов взаимодействия между ними, и получаемые результаты в этом случае характеризуются меньшей ошибкой, чем традиционные методы однофакторного исследования [2–5].

**Цель работы** – оптимизация условий культивирования штамма *E. coli*, продуцента рекомбинантной Taq полимеразы с аминокислотной заменой D732N методом полного факторного эксперимента.

В работе использован рекомбинантный штамм *E. coli* BL21(DE3), содержащий рекомбинантную плазмиду с геном мутантной Taq полимеразы pET21a-D732N (рис. 1).

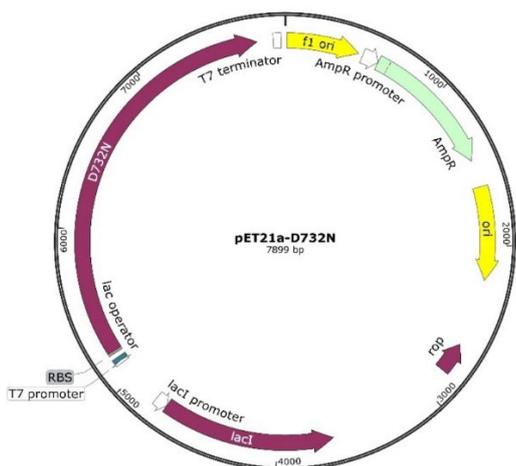


Рис. 1 – Генетическая карта вектора, кодирующего мутантную Taq полимеразу D732N

Из литературных источников [6] и результатов предварительных опытов установлено, что на уровень экспрессии белков в *E. coli* BL21(DE3) оказывают влияние следующие факторы: температура культивирования (Т), °С – фактор X<sub>1</sub>; концентрация индуктора в питательной среде (IPTG), мМ – фактор X<sub>2</sub>; скорость перемешивания – фактор аэрации (RPM), об/мин – фактор X<sub>3</sub>; продолжительность культивирования, (t), ч – фактор X<sub>4</sub>. С учетом предварительных опытов составлена матрица планирования приведенная в таблице 1.

Количество опытов N определяли по количеству факторов k в соответствии с выражением  $N = 2^k = 2^4 = 16$ . После реализации полного факторного эксперимента строили линейную математическую модель вида:  $y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_3 x_3 + b_4 x_4 + b_{12} x_1 x_2 + b_{13} x_1 x_3 + b_{14} x_1 x_4 + b_{23} x_2 x_3 + b_{24} x_2 x_4 + b_{34} x_3 x_4 + b_{123} x_1 x_2 x_3 + b_{124} x_1 x_2 x_4 + b_{134} x_1 x_3 x_4 + b_{234} x_2 x_3 x_4 + b_{1234} x_1 x_2 x_3 x_4 + b_0$ , где b<sub>i</sub> – коэффициенты регрессии. Для расчета коэффициентов регрессии этой математической модели строили расширенную матрицу планирования и результатов экспериментов (табл. 2, 3).

Таблица 1. Матрица планирования

Наименование	Фактор		Уровни варьирования			Интервал варьирования	Расчет фактора
	Обозначение	кодвое	+1	0	-1		
Температура, Т	X <sub>1</sub>	x <sub>1</sub>	37	26,5	16	10,5	$x_1 = (T - 26,5) / 10,5$
Индуктор, IPTG	X <sub>2</sub>	x <sub>2</sub>	1	0,55	0,1	0,45	$x_2 = (IPTG - 0,55) / 0,45$
RPM	X <sub>3</sub>	x <sub>3</sub>	250	205	160	45	$x_3 = (RPM - 205) / 45$
Продолжит., t	X <sub>4</sub>	x <sub>4</sub>	20	11	2	9	$x_4 = (t - 11) / 9$

Таблица 2. Расширенная матрица планирования

№ опыта	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>
1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	1	-1
2	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	1
3	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1
4	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1
5	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1
6	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1
7	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1
11	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
12	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1
13	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1
14	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1
15	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1
16	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1

Для культивирования клеток *E. coli* BL21(DE3) и синтеза белка применяли жидкую питательную среду LB. Индивидуальные колонии культивировали в шейкер-инкубаторе в среде LB при 37 °С при 200 об/мин до оптической плотности 0,4 при 600 нм. Далее индукцию проводили параллельно при 16 °С и 37 °С и с различным (0,1 мМ и 1 мМ) содержанием индуктора ИПТГ при 160 об/мин и 250 об/мин в течение 2 ч и 20 ч. Затем производили отбор культуральной жидкости объемом 1 мл, отделяли биомассу центрифугированием при 5000g при 4 °С в течении 20 мин., удаляли супернатант и ресуспендировали в 100 мкл раствора, содержащего 8М мочевины, 500 мМ хлорида натрия и 50 мМ дигидрофосфата натрия, с рН 7,4. Идентификацию Таq полимеразы в биомассе осуществляли посредством разделения белков в ПААГ в денатурирующих условиях с последующим окрашиванием Кумасси (рис. 2). Обработку электрофореграмм проводили в программе GelAnalyzer 19.1 [7]. В программе есть возможность стандартизировать интенсивность бендов по BSA, и итоговое содержание белка экстраполировалось в пересчете на BSA. Результаты приведены в таблице 3.

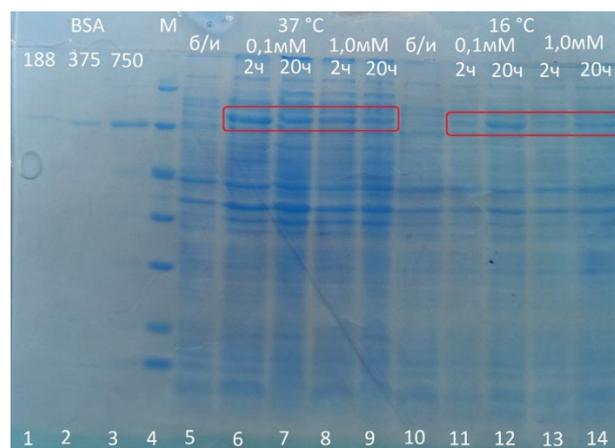


Рис. 2 – Электрофореграмма образцов после индукции: 1 – BSA 188 нг; 2 – BSA 375 нг; 3 – BSA 750 нг; 4 – маркер; 5 – образец без индуктора культивируемый при 37 °С; 6–9 – образцы культивируемые при 37 °С, при различной продолжительности и концентрации индуктора; 10 – образец без индуктора, культивируемый при 16 °С; 11–14 – образцы культивируемый при 16 °С, при различной продолжительности и концентрации индуктора.

Таблица 3. Результаты экспериментов

№ опыта	Натуральные значения переменных				Содержание белка, нг
	T	IPTG	RPM	t	
1	16	0,1	160	2	975
2	16	1	160	2	910
3	16	0,1	160	20	2401
4	16	1	160	20	1781
5	16	0,1	250	2	1573
6	16	1	250	2	1112
7	16	0,1	250	20	1128
8	16	1	250	20	901
9	37	0,1	160	2	523
10	37	1	160	2	450
11	37	0,1	160	20	910
12	37	1	160	20	923
13	37	0,1	250	2	1080
14	37	1	250	2	922
15	37	0,1	250	20	910
16	37	1	250	20	765

Коэффициенты при независимых переменных указывают на степень влияния факторов (таблица 4).

Таблица 4. Коэффициенты регрессии

b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>12</sub>	b <sub>13</sub>	b <sub>14</sub>	b <sub>23</sub>	b <sub>24</sub>	b <sub>34</sub>	b <sub>123</sub>	b <sub>124</sub>	b <sub>134</sub>	b <sub>234</sub>	b <sub>1234</sub>
-45	-108	268	136	-15	-139	-259	-63	-14	69	15	45	-110	-26	54

Таким образом, выявлено, что больше всего на уровень продукции целевого белка влияет скорость перемешивания, т. Е. фактор аэрации, причем повышении RPM в диапазоне 160–250 об/мин должно приводить к увеличению содержание белка. Вторым по значимости является парный фактор температуры и продолжительности, при одновременном увеличении или уменьшении этих факторов уровень синтеза белка понижается, и, соответственно, чтобы повысить уровень синтеза необходимо увеличивать продолжительность наработки при низких температурах, либо уменьшать продолжительность при высоких температурах. Также значимым фактором оказалась продолжительность культивирования: при увеличении продолжительности, содержание белка увеличивается.

### Литература

1. Кареткин Б.А. Факторный эксперимент для оптимизации условий предварительной обработки питательной среды / Б.А. Кареткин, Т.С. Катаева, Д.В. Баурин, В.Д. Грошева, И.В. Шакир, В.И. Панфилов // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 11–1. – С. 13–19; URL: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?Id=35469> (дата обращения: 18.08.2023).
2. Бирюков В.В. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза / В.В. Бирюков, В.М. Кантере. – М. : Наука, 1985. – 296 с.
3. Bajpai R.K. A mechanistic model for penicillin production / R.K. Bajpai, M. Reuss // *J. Chem. Technol. And Biotechnol.* – 1980. – Vol. 30. – Pp. 332–344.
4. Ettl P. Determination of the optimal feeding regime during biosynthesis of erythromycin / P. Ettl, J. Votruba // *Folia Microbiol.* – 1980. – Vol. 25. – Pp. 424–429.
5. Белаш Е.А. Анализ влияния независимых параметров на продукцию рекомбинантного химозина лося дрожжами *Kluyveromyces lactis* / Е.А. Белаш, П.В. Колосов, Д.В. Балабова, С.В. Бельнская, Д.Н. Щербаков // В книге: IX Международная конференция молодых ученых: вирусологов, биотехнологов, биофизиков, молекулярных биологов и биоинформатиков. Сборник тезисов. – Новосибирск, 2022. – С. 82–83.
6. Маслов Р.Д. Получение мутантных форм Таq-полимеразы: выпускная квалификационная работа бакалавра по направлению подготовки: 06.03.01 – Биология / Р.Д. Маслов. – Барнаул, 2022.
7. GelAnalyzer 19.1 ([www.gelanalyzer.com](http://www.gelanalyzer.com)) by Istvan Lazar Jr., PhD and Istvan Lazar Sr., PhD, CSc.

УДК 640

**РАЗРАБОТКА МИЦЕЛИАЛЬНО-УГОЛЬНЫХ КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ГРИБА БЕЛОЙ ГНИЛИ *TRAMETES HIRSUTA* ДЛЯ АКВАРЕМЕДИАЦИИ****О.А. Глазунова, К.В. Моисеенко, Т.В. Федорова***Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии”  
Российской академии наук, Москва, 119071, Россия*

Сточные воды текстильных производств содержат различные типы красителей, которые могут наносить значительный вред окружающей среде. Многие красители и их метаболиты могут обладать мутагенным, тератогенным или канцерогенным действием на живые организмы и, таким образом, представлять серьезную угрозу для водных экосистем. В настоящее время в очистке стоков от красителей в основном используются физические или химические методы, которые имеют ряд недостатков, таких как использование дополнительных химикатов, невысокая эффективность и высокие эксплуатационные расходы при больших объемах ремедиации, что зачастую делает их экономически невыгодными. В то же время биологические методы акваремедиации являются более эффективными и экологически чистыми, не вызывая вторичного загрязнения. Чаще всего для очистки сточных вод в биореакторах используются бактерии. В то же время грибы обладают значительно более высоким биодegradационным потенциалом благодаря наличию широкого спектра секретируемых окислительных ферментов, а также из-за их способности выдерживать суровые условия, в том числе, колеблющиеся нагрузки загрязняющих веществ, низкие значения pH и низкие концентрации питательных веществ.

В настоящей работе была исследована возможность применения базидиального гриба *Trametes hirsuta* для деградации антрахинонового красителя – ремазола бриллиантового синего R (RBBR). С целью установления, какие из основных ферментов лигнинолитического комплекса принимают участие в деградации RBBR, были проведены эксперименты по изучению транскрипционного ответа *T. hirsuta* на добавление в ростовую среду данного красителя. Методом RT-qPCR было установлено, что RBBR индуцирует экспрессию лакказ и подавляет экспрессию пероксидаз. Это согласовывалось с увеличением активности лакказ и снижением до нуля активности пероксидаз в культуральной жидкости в течение суток после добавления RBBR в среду.

Для того, чтобы совместить преимущества использования процессов ферментативного окисления при помощи грибных ферментов и физической адсорбции красителя углем в работе были использованы как мицелиальные пеллеты (МП) *T. hirsuta*, так и мицелиально-угольные композитные пеллеты (МУКП). Кроме того, для дополнительной индукции лакказ были получены МП и МУКП, выращенные в присутствии сульфата меди. Мицелиально-угольные композиты получали путем культивирования *T. hirsuta* на глюкозопептонной среде, содержащей активированный уголь, в течение 7–10 дней, после чего проводились эксперименты по биодegradации. В качестве контрольных образцов были использованы пеллеты, термоинактивированные при 60° С в течение 3 суток. Убыль красителя в реакционной среде детектировалась по снижению пика на 593 нм в спектре поглощения.

Сравнение эффективности удаления красителя при помощи МП и МУКП показала, что при концентрации красителя 100 мкМ и добавлении 10 мг (в пересчете на сухой вес) пеллет на 10 мл среды для деградации, убыль красителя достигала 30 % для МП и 90 % для МУКП после 4 часов инкубирования, а после 24 часов убыль красителя составляла более 95 % как для МП, так и для МУКП. При тестировании пеллет, выращенных в присутствии ионов меди, оказалось, что эффективность МП значительно возрастает и убыль красителя за 4 часа составляла более 60 %, однако в случае МУКП эффективность возрастала лишь в незначительной степени. Было установлено, что значительный вклад в убыль красителя вносит как адсорбция красителя пеллетами, так и биодegradация посредством ферментов, причем в первый час происходит в основном адсорбция, происходящая с более высокой скоростью, а затем – ферментативные процессы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, грант 23–46–00018.*

**ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ БИОГЕННЫХ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ****М.А. Купряшина, Е.Г. Пономарева, Е.П. Ветчинкина, А.С. Чернова***Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), г. Саратов, Россия*

Ежегодно в мире производится около 10 тысяч тонн красителей, нашедших свое применение в текстильной, косметической, полиграфической, фармацевтической и пищевой промышленности. Однако более 20 % от общего числа синтезированных красителей попадают в сточные воды в неизменном виде. Обладая токсическими, канцерогенными и мутагенными свойствами, они оказывают отрицательное воздействие не только на гидробионты, но и угрожают здоровью человека. Как показывает мировая практика, к сожалению, обычные методы обработки промышленных стоков, включающие сорбцию, химическую флокуляцию, фильтрацию или коагуляцию, малоэффективны [1]. Одной из передовых и бурно развивающихся технологий очистки сточных вод является нано-биоремедиация [2]. Наночастицы металлов в силу своих уникальных электронно-оптических свойств, большой площади поверхности, устойчивости к диффузии, нашли применение в сорбции, деколоризации и фотокатализе трудно деградируемых красителей [3]. Физико-химические методы получения наночастиц связаны обычно с большими энергозатратами, высокими температурами и давлением, токсичными отходами, и использованием поверхностно-активных веществ для стабилизации. Альтернативой традиционным методам получения функциональных наноматериалов является активно исследуемый биотехнологический способ, чаще именуемый «зеленым синтезом» [4].

**Цель работы** – синтез биогенных серебряных наночастиц с помощью культуры непатогенной бактерии *Azospirillum brasilense* и отработка технологии получения полимерных композитов на их основе.

Одним из минусов в использовании наночастиц в водных растворах, является их нестабильность и тенденция к агрегированию. Однако биогенные наночастицы, полученные в водных растворах соответствующих солей в присутствии различных типов микроорганизмов, характеризуются наличием на их поверхности белковых молекул. В данной работе нами были подобраны режимы биологического синтеза наночастиц серебра с использованием вегетативных клеток и очищенных препаратов внеклеточных фенолоксидаз *Azospirillum brasilense*, а также культуральной жидкости. В работе был использован штамм *A. brasilense* SR80 из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН, обладающий высокой фенолоксидазной активностью [5]. Бактерии культивировали на жидкой малатно-солевой среде, pH – 6,8, посевным материалом служила 12-часовая культура, выращенная на среде того же состава. В эксперименте использовали 36-часовую культуру бактерий. Клетки осаждали центрифугированием в течение 15 мин при 7000 g, ресуспендировали в физиологическом растворе. Клетки и супернатант использовали в реакциях биосинтеза наночастиц. Внеклеточный фермент, обладающий фенолоксидазной активностью, получали из супернатанта в несколько стадий. Первая стадия включала дробное осаждение белков культуральной жидкости сульфатом аммония в диапазоне 0–85 %. Вторая стадия – селективную сорбцию примесей на геле CaF<sub>2</sub>. Далее проводили гельпроницающую хроматографию на колонке с Sephadex G-75, ионообменную хроматографию на носителе Toyopearl DEAE-650M. Фракции, обладающие фенолоксидазной активностью, диализовали против воды и использовали в эксперименте.

Биосинтез наночастиц происходил при инкубации водного раствора AgNO<sub>3</sub> варьирующих концентраций от 0.1 мМ до 50 мМ с водными растворами очищенных ферментов, культуральной жидкости или бактериальных клеток при комнатной температуре в течение 24 ч и 48 ч. Для измерения спектров поглощения использовали спектрофотометр Specord 250. Оценку размера, формы и относительного количества электронно-плотных нанообразований проводили с помощью трансмиссионных электронно-микроскопических изображений (ТЭМ), полученных на электронном микроскопе Libra 120. Для измерения дзета-потенциала, среднего размера и распределения синтезированных частиц по размеру использовали прибор Zetasizer Nano ZS. Полученные наночастицы обладали высокими показателями коллоидной стабильности и относительной монодисперсности. Форма наночастиц была сферическая и кубическая, размеры варьировали от 10 до 50 нм (Рис. 1).

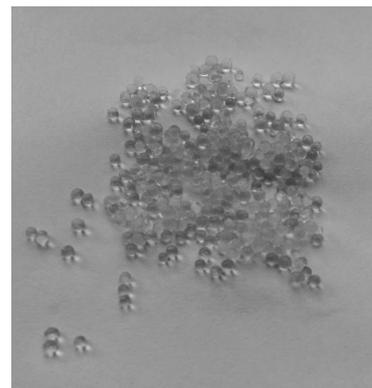
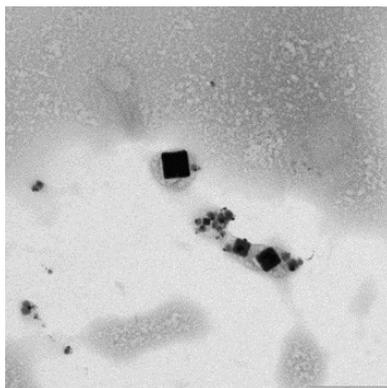
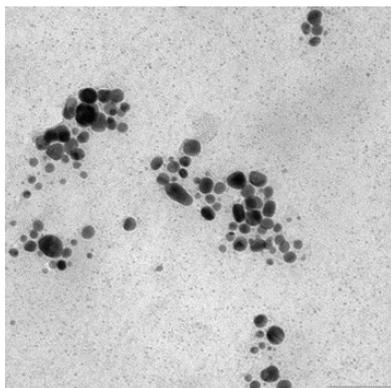


Рис. 1 ТЭМ-изображения полученных наночастиц серебра. Масштабная линейка соответствует 100 нм

Рис. 2 Внешний вид Са-альгинатных шариков

Несмотря на сравнительно низкие значения дзета-потенциалов ( $-10 \pm 5$  мВ), полученные коллоиды сохраняли коллоидную стабильность при хранении при  $+4$  °С более 10 дней без признаков агрегации или флокуляции частиц. Вероятнее всего, определенную роль в стабилизации сыграло присутствие белков в инкубационной смеси. Белки стабилизируют наночастицы и позволяют им ковалентно присоединяться к активным группам полимерных носителей. На следующей стадии были получены полимерные композиты с включением в структуру наночастиц серебра. В качестве полимерного носителя нами был выбран альгинат. Альгинат – это наиболее часто используемая матрица для инкапсуляции, поскольку он обладает высокой механической, биологической и химической стабильностью, имеет длительный срок хранения и низкую себестоимость. С применением метода «мягкой» иммобилизации были получены Са-альгинатные шарики с включенными в их структуру наночастицами. Для получения шариков 5 мл суспензии наночастиц в фосфатно-солевом буфере смешивали с 50 мл стерильного раствора 2.5 % альгината натрия. Далее полученный раствор добавляли к раствору 0.2 М  $\text{CaCl}_2$  по каплям с расстояния 20 см от поверхности раздела фаз через стерильный шприц. Полученные шарики дважды отмывали в свежем растворе 0.2 М  $\text{CaCl}_2$ , и хранили при  $4$  °С. Диаметр альгинатных шариков варьировал в пределах 2–3 мм (Рис. 2). Степень сферичности полученных альгинатных композитов критически зависит от концентрации альгината и расстояния от поверхности раздела фаз.

Полученные композиты на матрицах Са-альгината с включенными в структуру биосинтезированными наночастицами серебра планируется использовать для деколоризации синтетических красителей в водных растворах.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23–24–00570.*

### Литература

1. Lellis B., Fávaro-Polonio C.Z., Pamphile J.A., Polonio J.C. Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms // *Biotechnology Research and Innovation*. – 2019. – V. 3. – P. 275–290.
2. Soni R., Pal A.K., Tripathi P., et al. An overview of nanoscale materials on the removal of wastewater contaminants // *Appl Water Sci*. – 2020. – V.10. – P.189.
3. Homaeigohar Sh. The nanosized dye adsorbents for water treatment // *Nanomaterials*. – 2020. – V.10. – P.295.
4. Mohanpuria P., Rana N.K., Yadav S.K. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications // *J. Nanopart. Res*. – 2008. – V. 10. – P. 507–517.
5. Kupryashina M.A., Ponomareva E.G., Nikitina V.E. Ability of bacteria of the genus *Azospirillum* to decolorize synthetic dyes // *Microbiology*. – 2020. – V. 89. – P. 451–458.



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 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 подрисуночном тексте. Подрисуночные 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.

•