МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Биотехнология и общество в XXI веке

Сборник статей

Барнаул
Издательство
Алтайского государственного
университета
2015

УДК 6:57(082)3(082)
ББК 30.16я43+60я43
Б 63

Редакционная коллегия:
А.А. Ильичев, д.б.н. – главный редактор;
Н.Г. Базарнова, д.х.н.;
А.В. Ваганов, к.б.н.;
М.Г. Куцев, к.б.н.;
М.М. Силантьева, д.б.н.;
И.В. Смирнов, д.м.н.;
А.А. Тишкин, д.и.н.;
А.И. Шмаков, д.б.н.;
Е.В. Шелепова, к.и.н. – ответственный секретарь

Б 63 **Биотехнология и общество в XXI веке** [Текст] : сборник статей. — Барнаул : Изд-во Алт. ун-та, 2015. — 436 с.

ISBN 978-5-7904-1950-8

Сборник содержит статьи, подготовленные на основе материалов докладов Международной научно-практической конференции «Биотехнология и общество в XXI в.», которая состоялась в рамках Международного биотехнологического симпозиума «Bio-Asia — 2015» (Барнаул, 15–18 сентября 2015 г.).

Представлены результаты исследований в области медицинской биотехнологии; пищевой, промышленной биотехнологии; сельскохозяйственной, природоохранной и лесной биотехнологии.

Сборник рассчитан на ученых, специализирующихся в области биотехнологии.

УДК 6:57(082)3(082)
ББК 30.16я43+60я43

Сборник подготовлен при финансовой поддержке гранта РФФИ №15-08-20690 (проект организации Международной научной конференции «Биотехнология и общество в XXI веке»)

ISBN 978-5-7904-1950-8

© Алтайский государственный университет, 2015
© Оформление. Издательство Алтайского государственного университета, 2015

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF THE RUSSIAN FEDERATION
ALTAI STATE UNIVERSITY

Biotechnology and Society in the XXI Century

Collection of articles

Barnaul
Publishing House of
Altai State University
2015

UDK 6:57(082)3(082)
BBK 30.16я43+60я43
B 63

Editors:
A.A. Ilichyov, Doctor of Biology – chief editor;
N.G. Bazarnova, Doctor of Chemistry;
A.V. Vaganov, PhD in Biology;
M.G. Kutsev, PhD in Biology;
M.M. Silantyeva, Doctor of Biology;
I.V. Smirnov, Doctor of Medicine;
A.I. Shmakov, Doctor of Biology;
A.A. Tichkin, Doctor of History;
E.V. Shelepova, PhD in History – executive secretary

B 63 **Biotechnology and Society in the XXI Century** [Text] : Collection of articles. — Barnaul : Publishing House of Altai State University, 2015. — 436 p.

ISBN 978-5-7904-1950-8

The Collection contains articles made on the basis of reports of the international scientific and practical conference "Biotechnology and Society in the XXI Century", which was held in the frame work of the International Biotechnology Symposium "Bio-Asia — 2015" (Barnaul, 15–18 September 2015).

The results of research in the field of medical biotechnology; food, industrial biotechnology; agricultural, environmental and forest biotechnology are presented in the Collection.

The Collection is designed for scientists specializing in biotechnology.

UDK 6:57(082)3(082)
BBK 30.16я43+60я43

The Collection was prepared with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research grant № 15-08-20690 (project of organization of the international scientific conference "Biotechnology and Society in the XXI Century")

ISBN 978-5-7904-1950-8

© Altai State University, 2015
© Preparation. Publishing House of Altai State University, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

БИОМЕДИЦИНА И БИОИНЖЕНЕРИЯ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Безносюк С.А., Штоббе И.А. КОЛЛОИДНЫЕ КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ СЕЛЕНИДА ЦИНКА В ОБОЛОЧКЕ ЛАКТОЗЫ, КАК НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ РАКОВЫХ КЛЕТОК 18

Горячева К.В., Кейно В.В., Смирнов И.В. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ..... 22

Гумерова Е.А., Плотникова А.В., Шкильменская К.Р., Тухбатуллина Р.Г., Румянцева Н.И. ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *GLAUCIUM FLAVUM* CRANTZ (*PAPAVERACEAE*) 26

Кейно В.В., Горячева К.В., Смирнов И.В. НОВЫЕ ПОДХОДЫ К СТАНДАРТИЗАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ 32

Кнутов А.В., Антонян А.Э., Кильбергер К.А., Кузнецов А.Ю., Груздева А.Е., Басалыга В.Н., Конышкина Т.М., Руина О.В., Семенникова С.В., Севрюков Ф.А., Рахманов Р.С., Строганов А.Б. ПРИМЕНЕНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО СОСНОВОГО ЭКСТРАКТА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ УРОЛИТИАЗА 37

Краснобородкина М.А., Иванова М.С., Куцев М.Г. СКРИНИНГ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СРЕДИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФЛОРЫ АЛТАЯ МЕТОДОМ СКФ-ЭКСТРАКЦИИ 40

Кузовкина И.Н., Гусева А.В. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *IN VITRO* ГЕНЕТИЧЕСКИ ТРАНСФОРМИТРОВАННЫХ КОРНЕЙ ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО КАК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ФЛАВОНА С СЕЛЕКТИВНОЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ 45

Лебедев Л.Р., Аликин Ю.С., Даниленко Е.Д., Телегина Ю.В., Зайцев Б.Н. ИННОВАЦИОННЫЕ ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ 53

Маерле А.В., Петрова Е.Э., Комалева Р.Л., Доброчаева К.Л., Галанина О.Е., Трофимов Д.Ю., Бовин Н.В., Завриев С.К., Рязанцев Д.Ю. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ДНК-СТРЕПТАВИДИН В ИММУНО-ПЦР 57

Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Давыдюк А.В. СИНТЕТИЧЕСКИЕ ДЕПОНИРОВАННЫЕ ФОРМЫ NO В КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ 63

Мунхжаргал Н. ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЦВЕТКЕ КУЛЬТИВИРОВАННОЙ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ 67

Портянко А.С., Акалович С.Т., Пундик А.Н., Гончарова Н.В., Межеевский А.Б., Дорошенко Т.М. ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ β_{III}-ТУБУЛИНА (TUBBIII) НА РОСТОВЫЕ И ИНВАЗИВНЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ЧЕЛОВЕКА 70

Позднякова Ю.М., Пивненко Т.Н. ПРЕПАРАТЫ ВЫСОКОПОЛИМЕРНОЙ ДНК ИЗ МОЛОК ЛОСОСЕЙ И ОСЕТРОВ: ПРЕДПОСЫЛКИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СОСТАВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ 76

Свирновский А.И., Пасюков В.В., Федуро Н.А., Сергиевич О.В., Тарас И.Б., Бакун А.В. ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК КАК ПУТЬ К ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ТЕРАПИИ ЛЕЙКОЗОВ 79

Семёнов И.В., Макарова Е.В. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ НООТРОПНОГО ГЕЛЕВОГО КОМПЛЕКСА В КОНТЕКСТЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОРМЫ ПРЕПАРАТА 83

Семёнов И.В., Козлов Б.И. О НЕКОТОРЫХ ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫХ ЭФФЕКТАХ БИОКОМПЛЕКСА НООТРОПНЫХ РАСТЕНИЙ СИБИРИ И МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ 86

Скиба Е.А., Будаева В.В., Байбакова О.В., Макарова Е.И., Павлов И.Н., Золотухин В.Н., Крюков Ю.А. ПОЛУЧЕНИЕ БИОЭТАНОЛА ИЗ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА НА ОПЫТНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ ИПХЭТ СО РАН 90

Шевяков А.Г., Ветчинин С.С., Бикетов С.Ф. ПЕТЛЕВАЯ ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ И ИММУНОМАГНИТНАЯ СЕПАРАЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ 93

ПРОМЫШЛЕННАЯ И ПИЩЕВАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ В XXI ВЕКЕ

Аверьянова Е.В., Школьникова М.Н. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ 98

Аверьянова Е.В., Школьникова М.Н. КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ВТОРИЧНЫХ СЫРЬЕВЫХ РЕСУРСОВ ПЛОДОВО-ЯГОДНОГО ПРОИЗВОДСТВА 101

Акулов А.Н., Гумерова Е.А., Румянцева Н.И. ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПЛОДОВ И КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ГРЕЧИХИ 105

Анисимова Л.В., Выборнов А.А. ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ ЗЕРНА ПОД ВАКУУМОМ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БЕЗОПАСНОСТИ ЯЧМЕННОЙ МУКИ 111

Афаньков А.Н., Коньшин В.В., Беушева О.С., Вододохова М.В., Беушев А.А. КОМПОЗИЦИОННЫЕ СТРОИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ИЗ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ДЕРЕВООБРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ 115

Базарнова Н.Г., Зеленцова М.В., Микушина И.В. ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ СОЛОМЫ ГРЕЧИХИ, ОВСА И СОИ ПРЕПАРАТОМ ЦЕЛЛОЛЮКС А 118

Базарнова Н.Г., Меринова Е.Г., Микушина И.В. ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ ОБРАЗЦОВ НЕКОТОРЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ КОРМОВ 122

Байбакова О.В. ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА БИОЭТАНОЛА ОТ СТАДИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРЕДОБРАБОТКИ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА 126

Баташов Е.С. ВОЗМОЖНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ НАТУРАЛЬНОГО УКСУСА ИЗ СЫРЬЯ АЛТАЙСКОГО КРАЯ 129

Бахтин Г.Ю., Егорова Е.Ю. ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ БРОЖЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ ХЛЕБА ПРИ ВНЕСЕНИИ ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН 134

Вистовская В.П., Гордаченко В.М. ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СУБСТРАТА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИСУТСТВИИ АМИНОПЕПТИДАЗЫ 137

Гаврилова Н.Б., Молибога Е.А. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ТЕХНОЛОГИИ ПЛАВЛЕНЫХ СЫРОВ И СЫРНЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ 143

Гладышева Е.К., Скиба Е.А. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СИНТЕЗА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ПРОДУЦЕНТОМ *MEDUSOMYCES GISEVII* 150

Денисова М.Н., Будаева В.В., Павлов И.Н., Гисматулина Ю.А., Сакович Г.В., Севастьянова Ю.В. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ВОЛОКНИСТЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ — ОБРАЗЦОВ ГИДРОТРОПНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ИЗ НЕДРЕВЕСНОГО СЫРЬЯ 154

Димитров В.Г., Азолкина Л.Н., Щетинин М.П. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛЮКОНО-ДЕЛЬТА-ЛАКТОНА В ТЕХНОЛОГИИ СЫРОВ С ЧЕДДЕРИЗАЦИЕЙ И ПЛАВЛЕНИЕМ СЫРНОЙ МАССЫ 158

Евелева В.В. ВЛИЯНИЕ СПОСОБА КОНСЕРВИРОВАНИЯ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРОДУЦЕНТА ПИЩЕВОЙ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ 162

Егорова Е.Ю., Бочкарев М.С., Цыганок С.Н. К ВОПРОСУ ОБ ЭФФЕКТИВНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВТОРИЧНЫХ РЕСУРСОВ МАСЛОЖИРОВОЙ ОТРАСЛИ 166

Иркитова А.Н., Юрик С.А., Горбунов Ю.А., Семенихин В.И. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ МАРКИРОВАНИЕ ЛАКТОБАКТРИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ 170

Какимов А.К., Какимова Ж.Х., Бепеева А.Е., Есимбеков Ж.С. ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕПЕНИ НАКОПЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ 173

Какимова Ж.Х., Какимов А.К., Бепеева А.Е., Хуторянский В.В. КАПСУЛИРОВАНИЕ ПРОБИОТИКОВ В ГИДРОФИЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРЫ 176

Катраков И.Б., Маркин В.И., Базарнова Н.Г., Поляков Д.О. БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ ПЛИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ИЗ ДРЕВЕСИНЫ СОСНЫ С РАЗЛИЧНЫМИ СВЯЗУЮЩИМИ 179

Ковалев Н.Н., Есипенко Р.В., Порваткин Д.В. ОБОСНОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО БАССЕЙНА 182

Козубаева Л.А., Тузовская Е.А. НИЗКОБЕЛКОВОЕ ПЕЧЕНЬЕ ДЛЯ БОЛЬНЫХ ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ 185

Коцюба В.П., Никитин А.Ю., Коцюба А.В. О ВЛИЯНИИ КАРБОНИЗАЦИИ ПИВА НА КОНТРОЛЬ ОБЪЕМОВ ПРОИЗВОДСТВА 188

Кузнецова Е.А., Зомитев В.Ю., Кузнецова Е.А., Шуваева Е.Г. ПРИМЕНЕНИЕ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛАЗ И ФИТАЗЫ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ЗЕРНЕ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР 190

Кузьмина С.С., Козубаева Л.А. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УНИКАЛЬНОГО ПРОДУКТА АЛТАЙСКОГО КРАЯ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ 194

Лукаткин А.А., Лукаткин А.С. ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ БИОПРЕПАРАТА, СОЗДАННОГО ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ, НА РОСТ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ 201

Маркин В.И., Катраков И.Б., Базарнова Н.Г., Калюта Е.В., Мальцев М.И. РЕГУЛЯТОР РОСТА «ЭКО-СТИМ» 205

Маркин В.И., Курланова С.В., Ильичева Т.Н., Базарнова Н.Г., Колосов П.В. БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ СОРБЕНТЫ НЕФТИ 207

Мироненко И.М., Усатюк Д.А. ПРОБЛЕМА ИМПОРТОЗАМЕЩЕНИЯ В СЫРОДЕЛЬНОЙ ОТРАСЛИ 210

Мусина О.Н., Майоров А.А. СОВРЕМЕННЫЕ ИННОВАЦИОННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЫРОДЕЛИИ: АНАЛИЗ МИРОВЫХ ТЕНДЕНЦИЙ ЗА ПОСЛЕДНИЕ 20 ЛЕТ 213

Ненашева Г.И., Малыгина Н.С., Рябчинская Н.А., Арндт М.В. МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕЛИССОПАЛИНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕДОВ 217

Нестеренко И.К., Анисимова Л.В. МУЧНАЯ КОМПОЗИТНАЯ СМЕСЬ-КОНЦЕНТРАТ С ПОВЫШЕННОЙ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ЯЧМЕННОЙ МУКИ И ПРЯНОСТЕЙ 220

Новоселов С.В., Машенская Е.А., Вишняк М.Н. МЕТОДИКА ОЦЕНКИ И ВЫБОРА КАНАЛОВ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НОВАЦИОННОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОДУКТА ПИТАНИЯ 224

Одегов Н.И., Дорофеев Р.В., Ткаченко В.В. ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОВОГО ПУЛА СЫРОДЕЛЬНЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ С ЦЕЛЬЮ РАЗРАБОТКИ ЭФФЕКТИВНЫХ МЕТОДОВ ИХ ФАГОМОНИТОРИНГА 228

Орлова Т.Н., Иркитова А.Н. ВЫДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ОБЪЕКТОВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ОТБОР СРЕДИ НИХ ШТАММОВ, НАИБОЛЕЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАКВАСОК И КОНЦЕНТРАТОВ 232

Павлов И.Н., Будаева В.В., Денисова М.Н. УСТАНОВКА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТЕХНИЧЕСКОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ИЗ НЕДРЕВЕСНОГО СЫРЬЯ МЕТОДОМ ГИДРОТРОПНОЙ ОБРАБОТКИ 235

Перевязка Д.С., Самков А.А., Волченко Н.Н., Карасёва Э.В., Худокормов А.А. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ — ПРОДУЦЕНТОВ ЛИПИДОВ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ БИОТОПЛИВА ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЯ 239

Пивненко Т.Н. ФУНКЦИОНАЛЬНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОАКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ИЗ МОРСКОГО СЫРЬЯ..... 243

Писарева Е.В. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЮКВЫ И БРУСНИКИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КВАСОВ ВЫСОКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ 247

Полковникова М.В., Азолкина Л.Н., Щетинин М.П. ОБОГАЩЕНИЕ МОДЕЛЬНОЙ СМЕСИ ДЛЯ КУМЫСНОГО ПРОДУКТА ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ 251

Пронина Д.А., Азолкина Л.Н., Щетинин М.П. МЯГКИЙ ТВОРОГ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ 255

Протопопов А.В., Клевцова М.В., Ворошилова А.В., Бобровская С.А. МОДИФИКАЦИЯ ЛИГНИНА АРОМАТИЧЕСКИМИ АМИНОКИСЛОТАМИ 258

Рощупкина О.Е., Азолкина Л.Н., Щетинин М.П. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТРУКТУРООБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ СМЕТАНЫ 262

Рудомётов А.П., Антонец Д.В., Старожилова К.В., Андреева Н.Б., Щербаков Д.Н. ДИЗАЙН ЭКСПРЕССИОННОЙ КАССЕТЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ХИМОЗИНА ТЕЛЕНКА В КУЛЬТУРЕ *BACILLUS SUBTILIS* 265

Семенович А.В., Лоскутов С.Р. КОРА ХВОЙНЫХ ПОРОД — ПЕРСПЕКТИВНОЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ СОРБЕНТОВ РАЗЛИЧНОГО НАЗНАЧЕНИЯ 269

Скиба Е.А., Богомолова Ю.С. БИОСИНТЕЗ КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ НА ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЕ ИЗ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ 272

Скиба Е.А., Будаева В.В., Байбакова О.В., Макарова Е.И., Павлов И.Н., Золотухин В.Н., Крюков Ю.А. ПОЛУЧЕНИЕ БИОЭТАНОЛА ИЗ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА НА ОПЫТНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ ИПХЭТ СО РАН 275

Усатюк Д.А., Мироненко И.М. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ МОЛОЧНОГО ЖИРА В СОВРЕМЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ ПЕРЕРАБОТКИ МОЛОКА 278

Функ И.А., Иркитова А.Н. РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОБИОТИЧЕСКОГО КИСЛОМОЛОЧНОГО НАПИТКА 282

Ходырева З.Р., Вайтанис М.А. БИОТЕХНОЛОГИЯ КЕФИРНОГО НАПИТКА ДЛЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ 285

Цугкиев Б.Г., Кабисов Р.Г., Петрукович А.Г., Рамонова Э.В. ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫДЕЛЕННЫХ В РСО-АЛАНИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ 288

Чигаев И.Г., Комарова Л.Ф. ОЧИСТКА ПОДЗЕМНЫХ ВОД С ПРИМЕНЕНИЕМ НОВЫХ ОСАЖДЕННЫХ КОМПОЗИТНЫХ МЕМБРАН 293

Шарова Н.Ю., Выборнова Т.В., Коврыжина А.А., Михайлова Т.Н. БИОСИНТЕЗ БЕТА-ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗЫ ШТАММАМИ ASPERGILLUS NIGER — ПРОДУЦЕНТАМИ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ 297

Швидкая З.П., Давлетшина Т.А. ГИСТАМИН КАК ПОКАЗАТЕЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ ИЗ САЙРЫ ТИХОКЕАНСКОЙ 300

Юрина Г.Ф. ОБЗОР ИННОВАЦИЙ В ТЕХНОЛОГИИ БИОЭТАНОЛА 304

Яшкин А.И., Азолкина Л.Н. ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОТНО-СЫЧУЖНЫХ СГУСТКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЛЮКОНО-ДЕЛЬТА-ЛАКТОНА ... 307

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ, ЛЕСНАЯ И ПРИРОДООХРАННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

Акимова Е.Е., Минаева О.М., Блинова П.А., Апенышева М.В., Зюбанова Т.И., Зюбина В.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ В СОСТАВЕ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ 312

Алиева З.М. КУЛЬТУРА *IN VITRO* КАК МЕТОД ОЦЕНКИ УСТОЙЧИВОСТИ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ К ЗАСОЛЕНИЮ 315

Аликин Ю.С., Лебедев Л.Р., Морузи И.В., Подгорный В.Ф., Понюхов В.А., Ноздрин Г.А., Клименко В.П., Телегина Ю.В., Ермолаев В.В. КОМПЛЕКС ПРЕПАРАТОВ БАВ (ПРОБИОТИКОВ, РНК, ЦИТОКИНОВ, ФЕРМЕНТОВ) ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЖИВОТНЫХ И ПОЛУЧЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ ПРОДУКТОВ В АПК 320

Базарнова Н.Г., Тихомирова Л.И., Фролова Н.С. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ ЛАПЧАТКИ БЕЛОЙ (*POTENTILLA ALBA* L.) РАЗЛИЧНОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ 323

Величко Н.А., Смольникова Я.В. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ *DIGITALIS PURPUREA* L. 326

Вечернина Н.А., Тавартkиладзе О.К., Дурникин Д.А., Смашных К.А., Горина М.К. МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ ФИАЛКИ *SAINTPAULIA JONANTHA* (S. KEWENSIS C.B. KLARKE) 329

Воронкова О.Ю. ФОРМИРОВАНИЕ И РАЗВИТИЕ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА, ОРИЕНТИРОВАННОГО НА ПРОИЗВОДСТВО ОРГАНИЧЕСКОЙ (ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНОЙ) ПРОДУКЦИИ 333

Дурникин Д.А., Тавартkиладзе О.К., Гусева К.Ю., Мякишева Е.П. ОСОБЕННОСТИ КЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSU* L.) СОРТА РЕД СКАРЛЕТТ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* 337

Ерещенко О.В., Хлебова Л.П., Розова М.А. ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЯРОВОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОГО СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА 341

Жуков В.М., Семенихина Н.М. О ВНЕДРЕНИИ МАЛАВИТА В ВЕТЕРИНАРНУЮ ПРАКТИКУ 345

Захаров Е.В., Сультимова Т.Д., Стом Д.И. ПОЛУЧЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА ИЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОТХОДОВ ПРИ ПОМОЩИ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ 350

Ищук Л.П., Мацкевич В.В. РАЗМНОЖЕНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ВИДОВ *SALIX* L. *IN VITRO* 352

Калюта Е.В., Бояринцева А.В., Мальцев М.И., Афаньков А.Н., Коньшин В.В., Беушева О.С. Беушев А.А., Вододохова М.В. ИССЛЕДОВАНИЕ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ДЕРЕВООБРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ В КАЧЕСТВЕ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА ПШЕНИЦЫ 356

Костюкова Ю.А., Лебедева М.Д., Гумерова Е.А., Румянцева Н.И. ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОГЕННОЙ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *FAGOPYRUM TATARICUM* (L.) GAERTN 360

Кравец А.В., Терещенко Н.Н. БИОКОНВЕРСИЯ АГРОПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДОВ В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА 364

Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зайцев Д.Ю., Галин И.Р., Зинатуллина А.Е. БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ ФЕНОМЕНА АНДРОКЛИННОЙ ЭМБРИОИДОГЕНИИ *IN VITRO* 366

Лебедева И.А., Проккоева Ж.А., Щепеткина С.В. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ В ПТИЦЕВОДСТВЕ БИОКОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ 370

Лень Н.В., Алексеенко К.П., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А, Карасева Э.В. ОСОБЕННОСТИ РОСТА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* B2 НА СРЕДЕ С ПОНИЖЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ДЕЙТЕРИЯ 374

Макарова Е.И., Будаева В.В. СПОСОБ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА НЕПИЩЕВОГО ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ: ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ И ОТХОДОВ АПК 376

Масленникова К.А., Конюхова О.М. ИЗМЕНЧИВОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ РУТИНА В КОРЕ ОСИНЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИТОЦЕНОТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ 380

Мишустина С.А., Ромаданова Н.В., Абидкулова К.Т., Кушнаренко С.В. ПОЛУЧЕНИЕ АСЕПТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ *BERBERIS ILIENSIS* M. POP. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* 383

Муродова С.С., Давранов К.Д., Шурыгин В.В. НОВЫЙ МИКРОБИОПРЕПАРАТ ДЛЯ ХЛОПЧАТНИКА НА ОСНОВЕ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ 388

Отрошко Д.Н., Журавель Ю.С., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А., Карасёва Э.В. СТИМУЛИРУЮЩИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ РОДОКОККОВ С РАСТЕНИЯМИ 391

Проккоева Ж.А. ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА С КЛЕЯЩИМИ СВОЙСТВАМИ НА АКВАРИУМНЫХ РЫБАХ 394

Скапцов М.В., Куцев М.Г. ВЛИЯНИЕ ПОЛИ-N-ВИНИЛАМИДОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ КУЛЬТУР КЛЕТОК И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ *IN VITRO* 398

Сордонова Е.В., Жамсаранова С.Д. ТРОФОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ 400

Терехова О.Н., Глебов А.А., Бехтев Д.А. ПОЛУЧЕНИЕ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ С РЕГУЛИРУЕМЫМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКОВОГО КОМПОНЕНТА 404

Терещенко Н.Н., Кравец А.В., Акимова Е.Е., Минаева О.М. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ КОРМОВАЯ ДОБАВКА ДЛЯ ПРУДОВОЙ РЫБЫ НА ОСНОВЕ ПРОДУКТОВ БИОКОНВЕРСИИ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОТХОДОВ МИЦЕЛИЕМ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ 408

Тихомирова Л.И. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ДЕКОРАТИВНОМ САДОВОДСТВЕ НА ПРИМЕРЕ *IRIS SIBIRICA* L. 411

Тихомирова Л.И., Базарнова Н.Г., Фролова Н.С., Павлушин А.Е., Курчанова Е.А. РОСТСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА МОРФОГЕНЕЗ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ КУЛЬТУР *IN VITRO* 415

Тихомирова Л.И., Шмаков А.И., Кечайкин А.А., Александрова О.А. ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ МАССОВОГО РАЗМНОЖЕНИЯ *POTENTILLA ALBA* L. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* 420

Шейко Е.А. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ С ЦЕЛЬЮ СОХРАНЕНИЯ РЕДКИХ, ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ И СОЗДАНИЯ РЕЗЕРВНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ 425

Шеремет В.В., Волченко Н.Н., Самков А.А. ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И РАСТИТЕЛЬНОГО КОМПОНЕНТА НА ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ В РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНОМ ТОПЛИВНОМ ЭЛЕМЕНТЕ 429

Энхтайван А., Кузьмина Е.А., Калашникова Е.А., Балакина А.А. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА РАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ РОДА *ASTRAGALUS* L. И НАКОПЛЕНИЕ ВТОРИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* 431

CONTENTS

BIOMEDICINE AND BIOENGINEERING IN RECENT TIMES

Beznosjuk S.A., Shtobbe I.A. LACTOSE COATED ZINC SELENIDE COLLOIDAL QUANTUM DOTS AS NANOCRYSTALLINE OBJECTS FOR VISUALIZATION OF CANCER CELLS..... 18

Goryacheva K.V., Keino V.V., Smirnov I.V. BIOLOGICAL EVALUATION OF THE QUALITY OF RAW MATERIALS OF ANIMAL ORIGIN..... 22

Gumerova E.A., Plotnikova A.V., Shkilmenskaya C.R., Tukhbatullina R.G., Rumyantseva N.I. CALLUS INDUCTION IN YELLOW HORNPOPPY *GLAUCIUM FLAVUM* CRANTZ *(PAPAVERACEAE)*..... 26

Keino V.V., Goryacheva K.V., Smirnov I.V. NEW APPROACHES TO STANDARDIZATION OF VARIOUS RAW MATERIALS OF ANIMAL ORIGIN..... 32

Knutov A.V., Antonyan A.E., Kilberger K.A., Kuznetsov A.Yu., Gruzdeva A.E., Basalyga V.N., Konyshkina T.M., Ruina O.V., Semennikova S.V., Sevryukov F.A., Rakhmanov R.S., Stroganov A.B. PINE EXTRACT DOMESTIC USE IN COMPLEX TREATING UROLITHIASIS..... 37

Krasnoborodkina M.S., Ivanova M.S., Kutsev M.G. SCREENING OF THE PROMISING PHYTOGENIC MEDICINAL MATERIALS AMONG THE PLANT SPECIES OF ALTAI FLORA BY SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION..... 40

Kuzovkina I.N., Guseva A.V. THE CULTIVATION *IN VITRO* OF GENETICALLY TRANSFORMED ROOTS OF SCUTELLARIA BAICALNSIS AS BIOTECHNOLOGICAL PATHWAY FOR PRODUCTION FLAVONE WITH SELECTIVE CYTOTOXIC ACTIVITY..... 45

Lebedev L.R., Alikin Yu.S., Danilenko E.D., Telegina Yu.V., Zaitcev B.N. INNOVATION ANTIVIRAL PREPARATIONS..... 53

Maerle A.V., Petrova E.E., Komaleva R.L., Dobrochaeva K.L., Galanina O.E., Trofimov D.Yu., Bovin N.V., Zavriev S.K., Ryazantsev D. Yu. APPLICATION OF THE DNA-STREPTAVIDIN SUPRAMOLECULAR COMLEXES IN THE IMMUNO-PCR.. 57

Martusevich A.K., Soloveva A.G., Davyduk A.V. SYNTHETIC BOUND FROMS OF NITRIC OXIDE IN CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS, ASSOCIATED WITH THERMAL TRAUMA..... 63

Munkhjargal N. THE STUDY OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN *CALENDULA OFFICINALIS* FLOWERS..... 67

Portyanko A.S., Akalovich S.T., Pundik A.N., Goncharova N.V., Mezheyeuski A.B., Doroshenko T.M. THE INFLUENCE OF REGULATION OF β_{III}-TUBULIN EXPRESSION (TUBBIII) ON THE GROWTH AND INVASIVE PROPERTIES OF HUMAN COLORECTAL CANCER CELLS..... 70

Pozdnyakova Yu.M., Pivnenko T.N. PREPARATIONS OF HIGH-POLYMER DNA FROM MILTS OF SALMONS AND STURGEONS: PREREQUISITES FOR APPLICATION AS PHARMACEUTICALS..... 76

Svirnovski A.I., Pasiukov V.V., Feduro N.A., Sergievich O.V., Taras I.B., Bakun A.V. PRECLINICAL DRUG SENSITIVITY INVESTIGATION OF MALIGNANT CELLS AS THE WAY TO THE PERSONALIZATION OF LEUKEMIA TREATMENT..... 79

Semyonov I.V., Makarova E.V. ACTION MECHANISMS OF NOOTROPIC GEL COMPLEX IN THE CONTEXT OF PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF THE REMEDY FORM..... 83

Semyonov I.V., Kozlov B.I. SOME HEALTH EFFECTS FROM BIOCOMPLEX OF THE SIBERIAN NOOTROPIC PLANTS AND A MEDICAL LEECH..... 86

Skiba E.A., Budaeva V.V., Baibakova O.V., Makarova E.I., Pavlov I.N., Zolotukhin V.N., Kryukov Yu.A. BIOETHANOL PRODUCTION FROM OAT HULLS AT IPCET SB RAS PILOT FACILITY..... 90

Shevyakov A.G., Vetchinin S.S., Biketov S.F. LOOP–MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION AND IMMUNOMAGNETIC SEPARATION IN THE DIAGNOSIS OF MICROBIAL CONTAMINATION..... 93

INDUSTRIAL AND FOOD BIOTECHNOLOGY IN THE XXI CENTURY

Averyanova E.V., Shkolnikova M.N. FUNCTIONAL FOOD INGREDIENTS OF PLANT ORIGIN..... 98

Averianova E.V., Shkolnikova M.N. COMPLEX PROCESSING OF SECONDARY RAW MATERIAL RESOURCES OF FRUIT AND BERRY PRODUCTION..... 101

Akulov A.N., Gumerova E.A., Rumyantseva N.I. PHENOLIC COMPAUNDS OF FRUITS AND CELL CULTURES OF BUCKWHEAT..... 105

Anisimova L.V., Vybornov A.A. INFLIUENCE OF GRAIN PROCESSING UNDER VACUUM ON THE ENZYME ACTIVITY AND MICROBIOLOGICAL INDICATORS OF SAFETY OF BARLEY FLOUR..... 111

Afankov A.N., Konshin V.V., Beusheva O.S., Vododohova M.V., Beushev A.A. COMPOSITE BUILDING MATERIALS MADE OF AGRICULTURAL WASTE AND WOOD INDUSTRY..... 115

Bazarnova N.G., Zelentsova M.V., Mikushina I.V. ENZYMATIC HYDROLYSIS OF STRAW BUCKWHEAT, OATS AND SOYBEANS PREPARATION TSELLOLYUKS-A.... 118

Bazarnova N.G., Merinova E.G., Mikushina I.V. ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SAMPLES OF SOME PLANT FOOD..... 122

Baibakova O.V. BIOETHANOL YIELD AS A FUNCTION OF OAT HULL CHEMICAL PRETREATMENT STAGES..... 126

Batashov E.S. THE POSSIBILITIES OF NATURAL VINEGAR PRODUCTION FROM THE RAW MATERIALS OF ALTAY REGION..... 129

Bakhtin G.Yu., Egorova E.Yu. FEATURES OF FERMENTATION PROCESSES IN THE TECHNOLOGY OF BREAD WHEN MAKING DIETARY FIBER..... 134

Vistovskaya V.P., Gordachenko V.M. CHANGE MICROBIOLOGICAL INDICATORS SUBSTRATE IN CULTURING STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA IN THE PRESENCE OF AMINOPEPTIDASE..... 137

Gavrilova N.B., Moliboga E.A. INNOVATIVE TECHNOLOGY PROCESSED CHEESE AND CHEESE PRODUCTS FOR A FUNCTIONAL FOOD..... 143

Gladysheva E.K., Skiba E.A. BIOTECHNOLOGICAL FUNDAMENTALS FOR SYNTHESIS OF BACTERIAL CELLULOSE BY THE *MEDUSOMYCES GISEVII* PRODUCER..... 150

Denisova M.N., Budaeva V.V., Pavlov I.N., Gismatulina Yu.A., Sakovich G.V., Sevastianova Yu.V. FUNDAMENTAL PROPERTIES OF FIBROUS SEMI-PRODUCTS — HYDROTROPIC PULP SAMPLES — FROM NON-WOODY BIOMASS..... 154

Dimitrov V.G., Azolkina L.N., Shetinin M.P. GLUCONO-DELTA-LACTONE IN TECHOLOGY OF CHEDDARISED CHEESES..... 158

Eveleva V.V. PRESERVATION INFLUENCE ON INDUSTRIAL PRODUCER OF NUTRITION LACTIC ACID..... 162

Egorova E.Yu., Bochkarev M.S., Tsyganok S.N. TO THE QUESTION OF EFFECTIVE USE OF SECONDARY RESOURCES OF OIL AND FAT INDUSTRY..... 166

Irkitova A.N., Yurik S.A., Gorbunov Y.A., Semenikhin V.I. MOLECULAR-GENETIC MARKING LACTOBACTERIAS ARE USED IN THE PRODUCTION DAIRY PRODUCTS... 170

Kakimov A.K., Kakimova Zh.H., Bepeyeva A.Y., Yessimbekov Zh.S. INVESTIGATION OF THE DEGREE OF ACCUMULATION OF HEAVY METALS IN FOODSTUFFS..... 173

Kakimova Zh.H., Kakimov A.K., Bepeyeva A.Y., Khutoryanskiy V.V. ENCAPSULATION PROBIOTICS INTO HYDROPHILIC POLYMERS..... 176

Katrakov I.B., Markin V.I., Bazarnova N.G., Polalov D.O. BIODEGRADABLE PLATE MATERIALS FROM PINE WOOD WITH VARIOUS US..... 179

Kovalev N.N., Esipenko R.V., Porvatkin D.V. BASIS OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS OF PROCESSING OF BIVALVE MOLLUSKS IN COASTALS OF FAR EASTERN BASIN..... 182

Kozubaeva L.A., Tuzovskaya E.A. LOW-PROTEIN BISCUITSFOR PATIENTS WITH PHENYLKETONURIA..... 185

Kotsyuba V.P., Nikitin A.Y., Kotsyuba A.V. THE INFLUENCE OF BEER CARBONIZATION ON OVERALL PRODUCTION CONTROL..... 188

Kuznetcova E.A., Zomitev V.Yu., Kuznetcova E.A., Shuvaeva E.G. THE USE OF BIOCATALYSTS ON THE BASIS OF CELLULASE AND PHYTASE TO REDUCE THE CONTENT OF HEAVY METALS IN GRAIN CEREALS..... 190

Kuzmina S. S., Kozubaeva L. A. - PROSPECTS FOR THE USE OF THE UNIQUE PRODUCT OF THE ALTAI TERRITORY IN THE PRODUCTION OF BAKERY PRODUCTS... 194

Lukatkin A.A., Lukatkin A.S. CONCENTRATION EFFECTS OF BIOPREPARATION CREATED DURING THE PROCESSING OF DISTILLERY DREGS UPON GROWTH OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI..... 201

Markin V.I., Katrakov I.B., Bazarnova N.G., Kaliuta E.V., Mal'tsev M.I. GROWTH REGULATORS «ECO-STIM»..... 205

Markin V.I., Kurlanova S.V., Il'icheva T.N., Bazarnova N.G., Kolosov P.V. BIODEGRADABLE OIL SORBENTS..... 207

Mironenko I.M., Usatyuk D.A. IMPORT SUBSTITUTION PROBLEM IN THE CHEESE-MAKING INDUSTRY..... 210

Musina O.N., Mayorov A.A. MODERN INNOVATIVE BIOTECHNOLOGY IN CHEESE-MAKING: ANALYSIS OF GLOBAL TRENDS OVER THE PAST XX YEARS.... 213

Nenasheva G.I., Malygina N.S., Ryabchinskaya N.A., Arndt M.V. METHODOLOGICAL ASPECTS MELISSOPALYNOLOGICAL ANALYSIS OF BEE HONEY.... 217

Nesterenko I.K., Anisimova L.V. FLOUR COMPOSITE MIXTURE IS A CONCENTRATE WITH A HIGH NUTRITIONAL VALUE BASED ON BARLEY FLOUR AND SPICES..... 220

Novoselov S.V., Mashenskaya E.A., Vishnyak M.N. TECHNIQUE OF THE ASSESSMENT AND CHOICE OF CHANNELS DISTRIBUTIONS OF THE INNOVATIVE FUNCTIONAL FOOD PRODUCT..... 224

Odegov N.I., Dorofeyev R.V., Tkachenko V.V. RESEARCH OF INTEGRAL LITIC ACTIVITY OF PHAGE POOL OF CHEESE-MAKING ENTERPRISES WITH THE PURPOSE OF DEVELOPMENT OF EFFECTIVE METHODS THEM PHAGE MONITORING..... 228

Orlova T.N., Irkitova A.N. ALLOCATION OF LACTIC BACTERIA FROM OBJECTS OF THE NATURAL ORIGIN AND SELECTION AMONG THEM OF STRAINS, THE MOST PERSPECTIVE FOR CREATION OF BAKTERIAL FERMENTS AND CONCENTRATES..... 232

Pavlov I.N., Budaeva V.V., Denisova M.N. A SETTING FOR PRODUCTION PULP FROM NON-WOODY RAW MATERIALS BY HYDROTROPES COOKING..... 235

Perevyazka D.S., Samkov A.A., Volchenko N.N., Karaseva E.V., Khudokormov A.A. CULTIVATION OF MICROALGAE — PRODUCERS OF LIPIDS FOR THE PURPOSE OF RECEIVING BIOFUEL OF THE 3rd GENERATION..... 239

Pivnenko T.N. FUNCTIONAL FOR TECHNOLOGY AND BIOACTIVE PROPERTIES OF ENZYMATIC HYDROLYZATES FROM MARINE RAW MATERIALS..... 243

Pisareva E.V. PROSPECTS FOR THE USE OF CRANBERRIES AND CRANBERRY TO OBTAIN KVASOV WITH A HIGH BIOLOGICAL VALUE..... 247

Polkovnikova M.V., Azolkina L.N., Schetinin M.P. ENRICHMENT MODEL PRODUCT MIX FOR KUMYSNYH POLYUNSATURATED FATTY ACIDS..... 251

Pronina D.A., Azolkina L.N., Shetinin M.P. SOFT CHEESE FOR BABY FOOD..... 255

Protopopov A.V., Klevtcova M.V., Voroshilova A.V., Bobrovskaya S.A. MODIFICATION LIGNIN AROMATIC AMINOACIDS..... 258

Roshchupkina O.E., Azolkina L.N., Shetinin M.P. THE USE OF STRUCTURE-FORMING PROPERTIES OF WHEY PROTEINS IN THE PRODUCTION OF SOUR CREAM..... 262

Rudometov A.P., Antonets D.V., Starozhilova K.V., Andreeva N.B., Shcherbakov D.N. DESIGN OF THE EXPRESSING CARTRIDGE FOR THE CALF CHYMOSIN RECEIVING IN THE *BACILLUS SUBTILIS* CULTURE..... 265

Semenovich A.V., Loskutov S.R. THE BARK OF CONIFEROUS TREES IS A PROMISING RAW MATERIAL FOR THE MANUFACTURE OF VARIOUS SORBENTS..... 269

Skiba E.A., Bogomolova Yu.S. BIOSYNTHESIS OF FODDER YEASTS ON DISTILLERY DREG FROM LIGNOCELLULOSIC RAW MATERIALS..... 272

Skiba E.A., Budaeva V.V., Baibakova O.V., Makarova E.I., Pavlov I.N., Zolotukhin V.N., Kryukov Yu.A. BIOETHANOL PRODUCTION FROM OAT HULLS AT IPCET SB RAS PILOT FACILITY..... 275

Usatyuk D.A., Mironenko I.M. NUTRITION VALUE OF MILKFAT IN MODERN TECHNOLOGIES FOR MILK PROCESSING..... 278

Funk I.A., Irkitova A.N. ELABORATION BIOTECHNOLOGY OF PROBIOTIC FERMENTED DRINKS..... 282

Khodyreva Z.R., Vaytanis M.A. BIOTECHNOLOGY KEFIR DRINK FOR SPECIALIZED NUTRITION..... 285

Zugkiev B.G., Kabisov R.G., Petrukovich A.G., Ramonova E.V. THE CHARACTERISTIC OF THE LACTIC BACTERIA ALLOCATED IN RSO-ALANIYA AND THEIR PRACTICAL USE..... 288

Chigaev I.G., Komarova L.F. CLEANING GROUNDWATER USING NEW DEPOSITION OF COMPOSITE MEMBRANES..... 293

Sharova N.Yu., Vybornova T.V., Kovryzhina A.A., Mikhaylova T.N. BETA-FRUKTOFURANOSIDASASE BIOSYNTHESIS BY ASPERGILLUS NIGER STRAINS — PRODUCERS OF CITRIC ACID..... 297

Shvidkaya Z.P., Davletshina T.A. HISTAMINE AS AN INDICATOR OF SAFETY PRODUCTS FROM PACIFIC SAURY..... 300

Yurina G.F. REVIEW OF INNOVATIONS IN BIOETHANOL TECHNOLOGY..... 304

Yashkin A.I., Azolkina L.N. THE STUDY OF ACID-RENNET CURDS OBTAINED USING GLUCONO-DELTA-LACTONE..... 307

AGRICULTURAL, FOREST AND ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY

Akimova E.E., Minaeva O.M., Blinova P.A., Apenischeva M.V., Zyubanova T.I., Zyubina V.V. USING NATURAL SUBSTANCES IN PLANT PROTECTION BIOPREPARATIONS..... 312

Alieva Z.M. *IN VITRO* CULTURE AS A METHOD OF EVALUATION OF THE TOLERANCE OF CROPS TO SALINITY..... 316

Alikin Yu.S., Lebedev L.R., Moruzi I.V., Podgorny V.F., Ponyhov V.A., Nozdrin G.A., Klimenko V.P., Telegina Yu.V., Ermolaev V.V. THE COMPLEX OF BAS PREPARATIONS (PROBIOTICS, RNA, CYTOKINES, ENZYMES) FOR MAINTENANCE OF ANTI-INFECTIOUS SUSTAINABILITY OF FARM ANIMALS AND MANUFACTURING OF ENVIRONMENTALLY FRIENDLY FOODSTUFF IN THE AGRO INDUSTRY..... 320

Bazarnova N.G., Tikhomirova L.I., Frolova N.S. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE CHEMICAL COMPOSITION of MEDICINAL RAW MATERIALS CINQUEFOIL WHITE (*POTENTILLA ALBA* L.) DIFFERENT WAYS OF GETTING THE..... 323

Velichko N.A., Smolnikova Y.V. OPTIMIZATION OF CULTURE CONDITIONS CALLUS TISSUE *DIGITALIS PURPUREA* L. 326

Vechernina N.A., Tavartkiladze O.C., Durnikin D.A., Smashnykh K.A., Gorina M.K. MICROPROPAGATION PLANTS VIOLET *SAINTPAULIA JONANTHA* (S. KEWENSIS CB KLARKE)..... 329

Voronkova O.Y. THE FORMATION AND DEVELOPMENT OF AGRICULTURE, BASED ON THE PRODUCTION OF ORGANIC (ENVIRONMENTALLY FRIENDLY) PRODUCTS.... 333

Durnikin D.A., Tavartkiladze O.C., Guseva K.Yu., Myakisheva E.P. FEATURES TUBEROSUM TUBER (*SOLANUM TUBEROSU* L.) VARIATIO RED SCARLETT CULTURA *IN VITRO*..... 337

Ereschenko O.V., Khlebova L.P., Rozova M.A. EVALUATION OF SPRING DURUM WHEAT REGENERATION POTENTIAL TO CREATE A DROUGHT-RESISTANT SELECTION MATERIAL..... 341

Zhukov V.M., Semenikhina N.M. THE INTRODUCTION OF MALAVIT IN VETERINARY..... 345

Zakharov E.V., Sultimova T.D., Stom D.I. PREPARATION OF ELECTRICAL CURRENT FROM AGRICULTURAL WASTE USING MICROBIAL FUEL CELL..... 350

Ishchuk L.P., Mackiewicz V.V. REPRODUCTION OF ENERGY TYPES OF SALIX L. *IN VITRO*..... 352

Kalyuta E.V., Boyarinzeva A.V., Malzev M.I., Afankov A.N., Konshin V.V., Beusheva O.S., Beushev A.A., Vododohova M.V. INVESTIGATION OF AGRICULTURAL WASTE AND WOOD INDUSTRY AS A GROWTH PROMOTER WHEAT..... 356

Kostyukova Yu.A., Lebedeva M.D., Gumerova E.A., Rumyantseva N.I. THE HISTOLOGICAL ANALYSIS OF MORPHOGENIC SUSPENTION CULTURE OF *TARTARY BUCKWHEAT* (L.) GAERTN..... 360

Kravets A.V., Tereshchenko N.N. BIOCONVERSION OF AGRO-INDUSTRIAL WASTES IN BIOLOGICALLY ACTIVE PREPARATIONS FOR CROP PRODUCTION..... 364

Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zaitsev D.Yu., Galin I.R., Zinatullina A.E. BIOTECHNOLOGY OF OBTAINING OF SPRING SOFT WHEAT PLANTS ON THE BASE OF ANDROCLINAL EMBRYOIDOGENY PHENOMENON *IN VITRO*..... 366

Lebedeva I.A., Prokkoeva Zh.A., Schepetkina S.V. THE EFFECTIVENESS OF BIOCOMPLEX ON BASED ON STRAINS OF PROBIOTICS IN POULTRY..... 370

Len N.V., Alekseenko K.P., Volchenko N.N., Samkov A.A., Khudokormov A.A., Karaseva E.V. CHARACTERISTICS OF GROWTH OF *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* B2 ON THE MEDIUM WITH REDUCED DEUTERIUM CONTENT..... 374

Makarova E.I., Budaeva V.V. A METHOD OF ENZYMATIC HYDROLYSIS OF NON-FOOD CELLULOSE-CONTAINING RAW MATERIALS: ENERGY CROPS AND AGRO-INDUSTRIAL RESIDUES..... 376

Maslennikova K.A., Konyuhova O.M. VARIATION OF ACCUMULATION ROUTINE IN THE BARK ASPEN DEPENDING ON PHYTOTSENOTICHESKY GROWING CONDITIONS..... 380

Mishustina S.A., Romadanova N.V., Abidkulova K.T., Kushnarenko S.V. OBTAINING AN ASEPTIC COLLECTION OF *BERBERIS ILIENSIS* M. POP. IN THE *IN VITRO* CULTURE..... 383

Murodova S.S., Davranov K., Shurigin V.V. NEW MICROBIOLOGICAL FERTILASER FOR THE COTTON PLANT ON THE BASIS OF RHIZOBIAL BACTERIA..... 388

Otroshko D.N., Zhuravel Yu.S., Volchenko N.N., Samkov A.A., Khudokormov A.A., Karaseva E.V. STIMULATING INTERACTION OF OIL-DEGRADING RHODOCOCCUS WITH PLANTS..... 391

Prokkoeva Zh.A. EXPERIENCE WITH THE USE OF THE DRUG WITH ADHESIVE PROPERTIES ON AQUARIUM FISH..... 394

Skaptsov M.V., Kutsev M.G. EFFECT OF POLY-N-VINYLAMIDE TO GROWTH AND DEVELOPMENT OF PLANT CELL AND TISSUES *IN VITRO* CULTURE..... 398

Sordonova E.V., Zhamsarsnova S.D. TROPHOLOGICAL MICROELEMENT REGULATION OF FOOD..... 401

Terekhova O.N., Glebov A.A., Bekhtev D.A. PREPARATION OF WHEAT FLOUR WITH ADJUSTABLE CONTENT PROTEIN COMPONENTS..... 404

Tereshchenko N.N., Kravets A.V., Akimova E.E., Minaeva O.M. BIOLOGICALLY ACTIVE FEED ADDITIVE FOR POND FISH BASED ON THE PRODUCTS OF CELLULOSE-CONTAINING AGRICULTURAL WASTE BIOCONVERSED BY MYCELIUM OF HIGHER BASIDIOMYCETES..... 408

Tikhomirova L.I. BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS IN ORNAMENTAL HORTICULTURE ON THE EXAMPLE OF *IRIS SIBIRICA* L. 411

Tikhomirova L.I., Bazarnova N.G., Frolov N.S., Pavlushin A.E., Kurchanova E.A. GROWTH-STIMULATING ACTIVITY OF THE DRUG OF PLANT ORIGIN ON THE MORPHOGENESIS OF COMMERCIALLY VALUABLE CULTURES *IN VITRO*..... 415

Tikhomirov L.I., Shmakov A.A., Kechaikin A.A., Alexandrova O.A. EFFECTIVE METHOD OF MASS PROPAGATION OF *POTENTILLA ALBA* L. *IN VITRO* CULTURE..... 420

Sheyko E.A. BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES TO THE CONSERVATION OF RARE, ENDANGERED PLANTS AND CREATION OF A RESERVE OF GENETIC COLLECTIONS..... 425

Sheremet V.V., Volchenko N.N., Samkov A.A. INFLUENCE OF SUBSTRATE AND PLANT COMPONENTS ON ELECTROGENESIS PLANT MICROBIAL FUEL CELL.... 429

Enkhtaivan A., Kuzmina E.A., Kalashnikova E.A., Balakina A.A. INFLUENCE CULTIVATION CONDITIONS ON PLANT PROPAGATION KIND *ASTRAGALUS* L. AND ACCUMULATION OF SECONDARY COMPOUNDS IN CULTURE *IN VITRO*..... 431

БИОМЕДИЦИНА И БИОИНЖЕНЕРИЯ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

BIOasia Altai'2015

МЕЖДУНАРОДНЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СИМПОЗИУМ

УДК 616-006:621.3.049.77-022.53

С.А. Безносюк, И.А. Штоббе
Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

КОЛЛОИДНЫЕ КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ СЕЛЕНИДА ЦИНКА В ОБОЛОЧКЕ ЛАКТОЗЫ КАК НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ РАКОВЫХ КЛЕТОК

Проанализированы физические свойства квантовых точек селенида цинка в оболочке лактозы как потенциальных биомаркеров, полученных в результате низкотемпературного коллоидного синтеза в водной среде. Наличие на поверхности наночастиц адсорбированной лактозы способствует использованию их для визуализации раковых клеток. Показано наличие уширения запрещенной зоны квантовых точек по сравнению с шириной запрещенной зоны объемного полупроводника. Выявлено, что увеличение содержания лактозы приводит к уменьшению размера получаемых наночастиц, но слишком большое содержание покрывающего агента может препятствовать их образованию.

Ключевые слова: квантовая точка, биомаркер, раковая клетка, полупроводник, лактоза, селенид цинка.

S.A. Beznosjuk, I.A. Shtobbe
Altai State University (Barnaul, Russia)

LACTOSE COATED ZINC SELENIDE COLLOIDAL QUANTUM DOTS AS NANOCRYSTALLINE OBJECTS FOR VISUALIZATION OF CANCER CELLS

The physical properties of lactose coated zinc selenide quantum dots as potential biomarkers obtained by a low-temperature colloidal synthesis in an aqueous medium were analyzed. The presence on the surface of the obtained nanoparticles adsorbed lactose promotes their use for the visualization of cancer cells. The presence of broadening the band gap of quantum dots compared to the band gap of the semiconductor volume was shown. It was found that increasing the lactose content leads to a reduction in the size of the nanoparticles, but too much of the coating agent can interfere with their education.

Key words: Quantum dot, biomarker, cancer cell, semiconductor, lactose, zinc selenide.

Введение. Благодаря наличию эффекта размерного квантования, характерного для полупроводниковых частиц малых размеров (2–20 нм), квантовые точки являются объектами, обладающими уникальными оптическими свойствами, позволяющими использовать их в качестве кристаллических флуорофоров, т.е. веществ, которые могут служить в качестве флуоресцентных меток для визуализации биомолекул, в том числе раковых клеток [Мошников, 2014, с. 23–30].

Наиболее простым и распространенным способом связывания квантовой точки с раковой клеткой внутри живого организма является образование авидин-биотинового комплекса между привитой к поверхности квантовой точки молекулой авидина и биотинилированным антителом, связанным с раковой клеткой [Эллиниди, 2013, с. 8–11].

Биотин, органическое соединение, выделяемое из желтков яиц, состоящее из тетрагидроамидазного и тетрагидротиофенового кольца, в котором один из атомов водорода замещен на молекулу валериановой кислоты, способен образовывать устойчивый, биологически неактивный комплекс с авидином, гликозидным белком, получаемым из яичного белка и являющимся антагонистом биотина, который «при-

вивается» к квантовой точке путем образования связи между ним и молекулами органического покрытия (в данном случае — лактозы), адсорбированными на поверхности нанокристаллического полупроводника [Мазинг, 2013, с. 120–121].

Прикрепленные к раковым клеткам квантовые точки подвергаются облучению, после чего начинают люминесцировать, визуализируя биологический объект.

Вопрос цитотоксичности квантовых точек как биомаркеров может быть решен использованием в качестве полупроводникового материала вместо токсичных халькогенидов кадмия или свинца, более безопасных сульфида и селенида цинка.

Селенид цинка — это прямозонный широкозонный A_2B_6 полупроводник n-типа с шириной запрещенной зоны объемного материала, равной 2,7 эВ, что соответствует длине волны в 460 нм. Квантовые точки селенида цинка флуоресцируют в диапазоне от голубого до ультрафиолетового. Коротковолновое испускание и отсутствие цитотоксичности является их преимуществом по сравнению с квантовыми точками других полупроводников.

Получаемые в данной работе квантовые точки селенида цинка за счет наличия на их поверхности адсорбционного стабилизирующего покрывающего слоя из молекул лактозы являются материалом, который может быть использован в биологических объектах как биомаркер.

Лактоза была выбрана в качестве покрывающего агента, потому что она является доступным, недорогим и полностью биоразлагаемым материалом. Наличие в молекуле лактозы 9 гидроксильных групп способствует в данном случае комплексообразованию ионов цинка, а также формированию супрамолекулярных структур, выступающих в качестве матрицы для роста частиц селенида цинка.

Синтез и исследование физических свойств. В качестве источника ионов Se^{2-} был использован водный раствор селеносульфата натрия, приготовленный путем растворения элементарного металлического порошкового селена в водном растворе сульфита натрия при повышенной температуре. В качестве источника ионов Zn^{2+} служила соль хлорида цинка. Стабилизирующим агентом, адсорбирующимся на поверхности частиц, была лактоза. В качестве комплексообразователя выступал аммиак. Синтез квантовых точек проводился по методике, изложенной нами ранее [Безносюк, 2015, с. 13–14].

Как было показано ранее [Безносюк, 2015, с. 14], синтезированные малые нанокристаллические частицы за счет наличия у них высокой поверхностной энергии слипаются друг с другом, образуя объемные агрегаты, обладающие сферической формой и имеющие средний диаметр от 10 до 100 нм.

Наличие адсорбированных на поверхности полученных наночастиц молекул лактозы было подтверждено ранее путем исследования образцов на ИК-спектрометре «Инфралюм FT-801» [Пильберг и др., 2015, с. 172]. Таким образом, присутствие лактозы было явно доказано.

Для получения квантовых точек селенида цинка был проведен эксперимент с использованием нескольких различных мольных соотношений ионов цинка и селена (Zn : Se): 1 : 1, 1 : 2, 2 :1 и 2 : 3. Покрывающий агент лактоза для каждого из четырех случаев был взят в количестве 20% по отношению к содержанию ионов цинка.

На рисунке 1 представлены спектры поглощения УФ-излучения полученных образцов, снятые на спектрометре SPECORD UV VIS. Из рисунка видно, что образцы 1, 2 и 4 (мольное соотношение Zn : Se — 1 : 1, 1 : 2 и 2 : 3 соответственно) в ожидаемой области длин волн свет не поглощают. Это свидетельствует о том, что квантовые точки селенида цинка при использовании данных соотношений не образуются, что было заметно и визуально в процессе синтеза. При использовании соотношения Zn : Se 2 : 1 (образец 3) наночастицы селенида цинка образовывались,

о чем свидетельствует, кроме выпадения осадка, также и наличие максимума поглощения на спектре данного образца.

Максимум поглощения полученных квантовых точек селенида цинка (образец 3) приходится на длину волны $35{,}2 \cdot 10^3$ см$^{-1}$ (284 нм), что соответствует ширине запрещенной зоны 4,37 эВ. Объемный материал селенида цинка поглощает при 460 нм (2,7 эВ). Таким образом, у синтезированных в данной работе квантовых точек селенида цинка, по сравнению с объемным полупроводником, наблюдается сдвиг максимума поглощения в область более коротких волн и уширение запрещенной зоны. Наблюдаемый сдвиг может быть объяснен наличием состояния конфайнмента в малых по размеру частицах вещества.

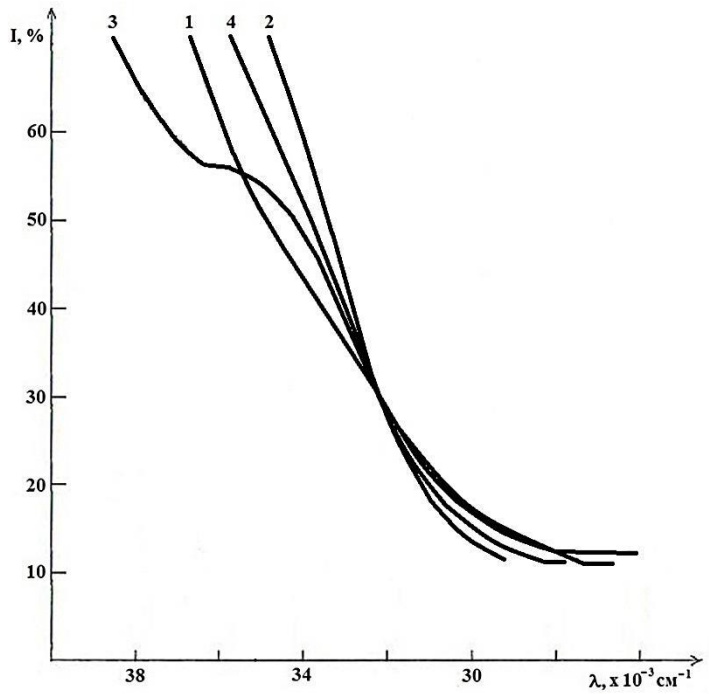


Рис. 1. УФ-спектры поглощения образцов, полученных в результате использования растворов с различными мольными соотношениями ионов цинка и селена (Zn : Se): 1) 1 : 1; 2) 1 : 2; 3) 2 : 1; 4) 2 : 3

По приближенному уравнению (1) [Кожевникова, 2015, с. 232] был рассчитан средний диаметр частиц в образце 3, который оказался равен 4,4 нм.

$$r = \frac{2\pi\hbar}{\sqrt{8\mu\Delta E}},$$

где ΔE — разность между значениями ширины запрещенной зоны квантовых частиц и ширины запрещенной зоны объемного полупроводника; r — радиус частиц; μ — эффективная масса экситона в селениде цинка.

Затем с использованием рентгенографа «ДРОН-1» была снята рентгенограмма полученного образца квантовых точек селенида цинка (рис. 2).

Виден широкий пик с максимумом в области 34,5°, соответствующий кристаллографической плоскости *002*, ось *c*, что доказывает наличие гексагональной структуры у полученных образцов квантовых точек селенида цинка [Шустов, 2011, с. 2–4]. Большая ширина дифракционного пика может быть объяснена малыми размерами наночастиц.

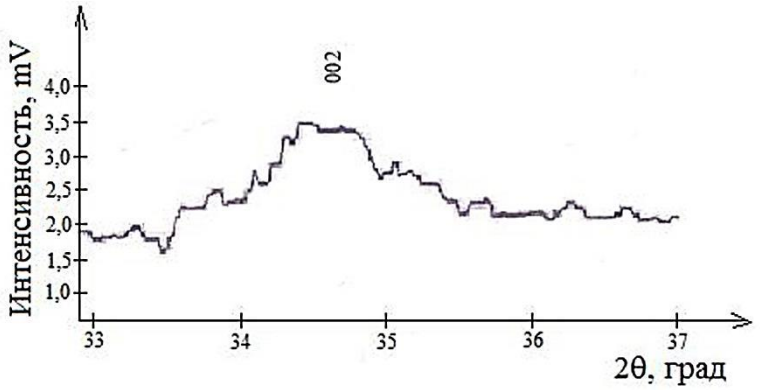


Рис. 2. Рентгенограмма квантовых точек селенида цинка в оболочке лактозы

Затем было исследовано влияние на размер получаемых наночастиц содержания покрывающего агента — лактозы. Варьировалось процентное содержание лактозы в реакционной смеси по отношению к содержанию цинка. Были приготовлены образцы квантовых точек селенида цинка со следующим процентным содержание лактозы по отношению к цинку: 5, 10, 20 и 30%.

Спектры поглощения УФ-излучения полученных образцов представлены на рисунке 3.

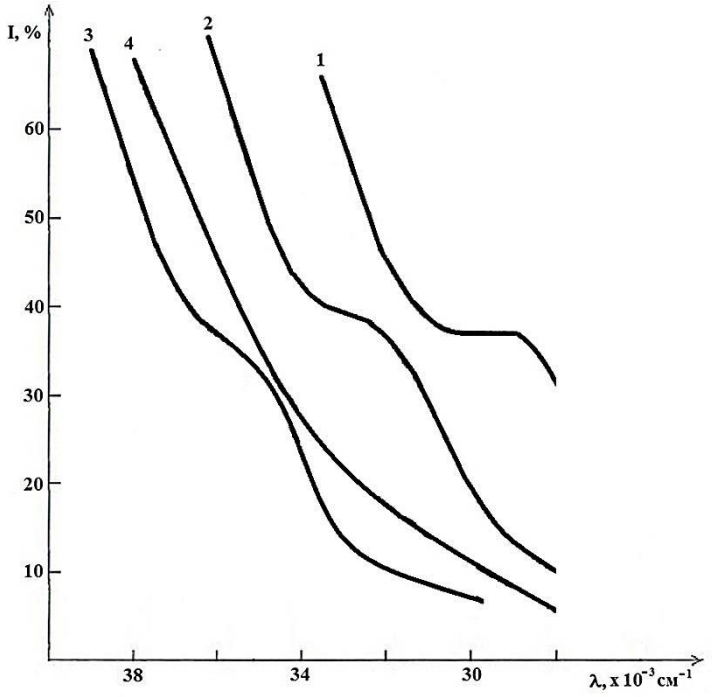


Рис. 3. УФ-спектры поглощения образцов, полученных в результате использования растворов с различным процентным содержанием лактозы по отношению к цинку: 1) 5%; 2) 10%; 3) 20%; 4) 30%

Из рисунка видно, что образец 4 не поглощает свет в данной спектральной области, что свидетельствует о том, что селенид цинка не образуется в смеси с высоким, 30%-ным содержанием лактозы. Можно предположить, что повышенное содержание молекул лактозы в процессе синтеза затрудняет подвод ионов селена к ионам цинка и тем самым препятствует образованию наночастиц селенида цинка.

Образцы 1, 2 и 3 поглощают свет, причем длина волны поглощаемого излучения уменьшается с ростом содержания лактозы: 5% соответствует длине волны

339 нм, 10% — 312 нм, 20% — 289 нм. По уравнению (1), используя полученные спектры, рассчитали средние диаметры частиц, которые составили для содержания лактозы 5, 10 и 20% — 6,0; 5,0 и 4,5 нм соответственно. Из чего можно заключить, что малое количество покрывающего агента приводит к образованию более крупных частиц.

Заключение. Таким образом, представлена возможность практического получения квантовых точек селенида цинка, покрытых лактозой, с различным диаметром частиц, которые могут быть использованы в дальнейшем как биомаркеры для визуализации раковых клеток в живом организме, так как синтезированные полупроводниковые частицы являются по своей природе нанокристаллическими флуорофорами. Наличие на поверхности квантовых точек селенида цинка лактозной оболочки обеспечивает возможность «прививания» к ним молекул авидина, посредством которого осуществляется связывание квантовой точки с раковой клеткой, соединенной с биотинилированным антителом.

Библиографический список

Безносюк С.А., Штоббе И.А. Низкотемпературный синтез полупроводниковых квантовых точек селенида цинка // Известия Алт. гос. ун-та. 2015. №1/1 (85). С. 12–15.

Безносюк С.А., Штоббе И.А., Пильберг С.Б. Нанокристаллические квантовые точки селенида цинка: низкотемпературный коллоидный водный синтез, покрытие лактозой, характеристика физических свойств // Фундаментальные проблемы современного материаловедения. Барнаул, 2015. Вып. 2 (12). С. 169–174.

Кожевникова Н.С., Ворох А.С., Урицкая А.А. Наночастицы сульфида кадмия, полученные методом химического осаждения из растворов // Успехи химии. 2015. №84 (3). С. 225–250.

Мазинг Д.С., Матюшкин Л.Б., Александрова О.А., Дробинцева А.О., Кветной И.М., Крылова Ю.С., Мошников В.А., Мусихин С.Ф., Полякова В.О., Рыжов О.А. Биомаркеры на основе коллоидных квантовых точек для поисковых научных исследований // Тезисы докладов Российской молодежной конференции по физике и астрономии. СПб., 2013. С. 120–121.

Мошников В.А., Александрова О.А., Дробинцева А.О., Кветной И.М., Крылова Ю.С., Мазинг Д.С., Матюшкин Л.Б., Мусихин С.Ф., Полякова В.О., Рыжов О.А. От лазерной оптической микроскопии до флуоресцентной микроскопии высокого разрешения. Коллоидные квантовые точки — биомаркеры в поисковых научных исследованиях // Биотехносфера. 2014. №6 (36). С. 16–30.

Шустов Д.Б., Байдакова М.В., Вальковский Г.А., Яговкина М.А. Рентгеновская рефрактометрия поликристаллов. СПб., 2011. 25 с.

Эллиниди В.Н., Анникеева Н.В. Иммуногистоцитохимия: теория и практика : учебное пособие. СПб., 2013. 52 с.

УДК 615.324

К.В. Горячева[1,2], В.В. Кейно[1,2], И.В. Смирнов[1]

[1]Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

[2] Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул, Россия)

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В настоящее время сырье животного происхождения является перспективным, так как является возобновляемым источником для производства средств, имеющих различную активность. Например, панты марала и гомогенат трутневой личинки являются перспективными источниками сырья для производства средств с гемостимулирующей активностью. В данное время нет стандартов изучения активности на биологических системах средств, обладающих гемостимулирующим действием.

***Ключевые слова**:* гемостимулирующее средство, сырье животного происхождения, панты марала, гомогенат трутневой личинки.

K.V. Goryacheva[1,2], V.V. Keino[1,2], I.V. Smirnov[1]
Altai State University (Barnaul, Russia)
Altai State Medical University (Barnaul, Russia)

BIOLOGICAL EVALUATION OF THE QUALITY OF RAW MATERIALS OF ANIMAL ORIGIN

Currently, raw materials of animal origin is promising because it is a renewable source for the production of means of varying activity. For example, antlers of young Siberian stag and the homogenate of drone larvae are promising sources of raw materials for the production of medicinal substance with a hemostimulating activity. There are currently no standards for the study of substances having a specific activity in biological systems

***Key words**:* hemostimulating drug, raw materials, antlers of young Siberian stag, homogenate of drone larvae.

Панты марала — известный во всем мире продукт оздоровления. История их применения в таких странах, как Китай, Корея, Япония, насчитывает несколько тысяч лет, но, несмотря на это, изучение пантов марала до сих пор актуально. Они обладают регенеративным, иммуномодулирующим [Immunomodulatory effects…, 2013], гипотензивным, адаптогенным эффектами, способны стимулировать пролиферацию лейкоцитов и фибробластов [A novel polypeptide…, 2006]. Выделены несколько пептидов и триацетилглицеридов, обладающих иммуномодулирующей активностью [Cervi cornus Colla…, 2013; Sunwoo et al., 1997].

Гомогенат трутневой личинки является перспективным продуктом пчеловодства. Его получают путем измельчения личинок трутней. Таким образом, в составе гомогената трутневой личинки содержится широкий набор питательных элементов: факторов роста, гормонов, витаминов, микроэлементов, аминокислот, фосфолипидов [Бурмистрова, 1999]. В настоящее время есть работы по изучению активности гомогената трутневой личинки: проведенные исследования показали его высокую гепатопротекторную эффективность [Клишина, 2003], выраженную иммуномодулирующую активность в отношении клеточных и гуморальных компонентов иммунной системы, стимуляцию центральной нервной системы [Красовская, 2009]. Так же, как и в случае с пантами марала, механизмы эффектов не выявлены. Так как нет конкретного действующего вещества, то невозможно точно определить его активность. В настоящее время продолжаются изучение механизмов действия данных субстанций и оценка качества сырья в биологических системах.

Эксперимент проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под редакцией А.Н. Миронова [Гольдберг и др., 1999; Миронов, 2012]. Осуществлялось исследование действия гомогената трутневой личинки и пантов марала на способность костномозговых нуклеаров образовывать гранулоцитарные колонии, а миелокариоцитов — эритроидные колонии в системе *in vitro*. Гомогенат трутневой личинки и извлечение из пантов марала фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм. Далее готовились разведения стерильного гомогената трутневой личинки и извлечения из пантов в следующем соотношении: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/:64, 1/128, 1/256, 1/ 512, 1/1024, 1/2048. Для изучение действия гомогената трутневой личинки и пантов марала на способность миелокариоцитов образовывать эритроидные колонии в системе *in vitro* производили следующие манипуляции: бедренную кость мыши стерильно выделяли (в условиях ламинар-бокса), очищали от мягких тканей,

после чего костный мозг из кости асептически эксплантировали и суспендировали в среде RPMI-1640. Для фракционирования костного мозга суспензию костномозговых клеток инкубировали в течение 45 мин в среде RPMI-1640, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), в 35 мм пластиковых чашках Петри в течение 40 мин при 37 °С, 5% CO_2 и 100% влажности. Затем среду из чашек осторожно отсасывали, а не прилипшие при инкубации к пластику клетки дважды отмывали. Концентрацию неадгезирующих жизнеспособных костномозговых нуклеаров доводили до 2 х 10^5 на 1 мл полувязкой среды следующего состава: 89% среды RPMI-1640,1% метилцеллюлозы, 10% ЭТС, 280 мг/мл L-глютамина, 50 мг/л гентамицина, 960 мкл гомогената трутневой личинки (в соответствующем разведении) или 960 мкл пантов марала (в соответствующем разведении), профильтрованных через стерилизующий фильтр. По 0,2 мл приготовленной взвеси клеток помещали в 96-луночные пластиковые планшеты, каждый ряд соответствовал собственному разведению: первый ряд — чистому гомогенату трутневой личинки или чистому водному извлечению из пантов марала, второй ряд — разведению 1 : 2 каждого вещества в отдельности, третий — разведению 1 : 4 и далее до разведения 1 : 1024 каждого вещества соответственно. Данные планшеты инкубировали в течение трех суток в CO_2 в инкубаторе при 37 °С, 5% CO_2 и 100% влажности воздуха.

После инкубации подсчитывали количество выросших колоний и кластеров. Под колониями подразумевали образовавшиеся в культуре очаги гемопоэза, содержащие более 30 кроветворных элементов, а под кластерами — от 5 до 30 клеток.

Далее проводили исследование действия гомогената трутневой личинки и водного извлечения из пантов марала на способность костномозговых нуклеаров образовывать гранулоцитарные колонии в системе *in vitro.* Для этого бедренную кость мыши стерильно выделяли (в условиях ламинар-бокса), очищали от мягких тканей, после чего костный мозг из кости асептически эксплантировали и суспендировали в среде RPMI-1640. Концентрацию жизнеспособных не прилипающих элементов доводилась до 2 × 10^5 на 1 мл полувязкой среды следующего состава: 79% RPMI-1640, 1% метилцеллюлозы, 20% ЭТС, 280 мг/мл L-глютамина, 4 мкМ 2-меркаптоэтанола, 50 мг/л гентамицина, 960 мкл гомогената трутневой личинки (в соответствующем разведении) или 960 мкл пантов марала (в соответствующем разведении), профильтрованных через стерилизующий фильтр. По 0,2 мл приготовленной клеточной взвеси помещали в 96-луночные планшеты, каждый ряд соответствовал собственному разведению: первый ряд — чистому гомогенату трутневой личинки или чистому водному извлечению из пантов марала, второй ряд — разведению 1 : 2 каждого вещества в отдельности, третий — разведению 1 : 4 и далее до разведения 1 : 1024 каждого вещества соответственно и культивировали в течение семи суток в CO_2 в инкубаторе при 37 °С, 5% CO_2 и 100% влажности воздуха. После инкубирования подсчитывали число выросших колоний и кластеров. Под колониями подразумевали образующиеся в полутвердой культуре клеточные агрегаты, содержащие более 50 кроветворных элементов, а под кластерами — от 5 до 50 клеток.

На рисунке 1 представлены результаты количества эритроидных колоний в эксперименте. Как видно, неразведенный гомогенат трутневой личинки оказывает более выраженное стимулирующее влияние на способность миелокариоцитов образовывать эритроидные колонии в системе *in vitro*, по сравнению с пантами марала. Количество колоний было более чем в 5 раз больше фона, в то время как неразведенное извлечение из пантов марала показало рост в 2,8 раза больше фоновых значений. Однако извлечение из пантов марала сохраняет стимулирующую активность более длительно с увеличением разведения: вплоть до разведения в 16 раз наблюдалось достоверное увеличение числа колоний. Гомогенат трутневой личинки

при разведении в 8 раз не увеличивал количество колоний по сравнению с фоновыми показателями. В последующих разведениях достоверных отклонений от фона не наблюдалось.

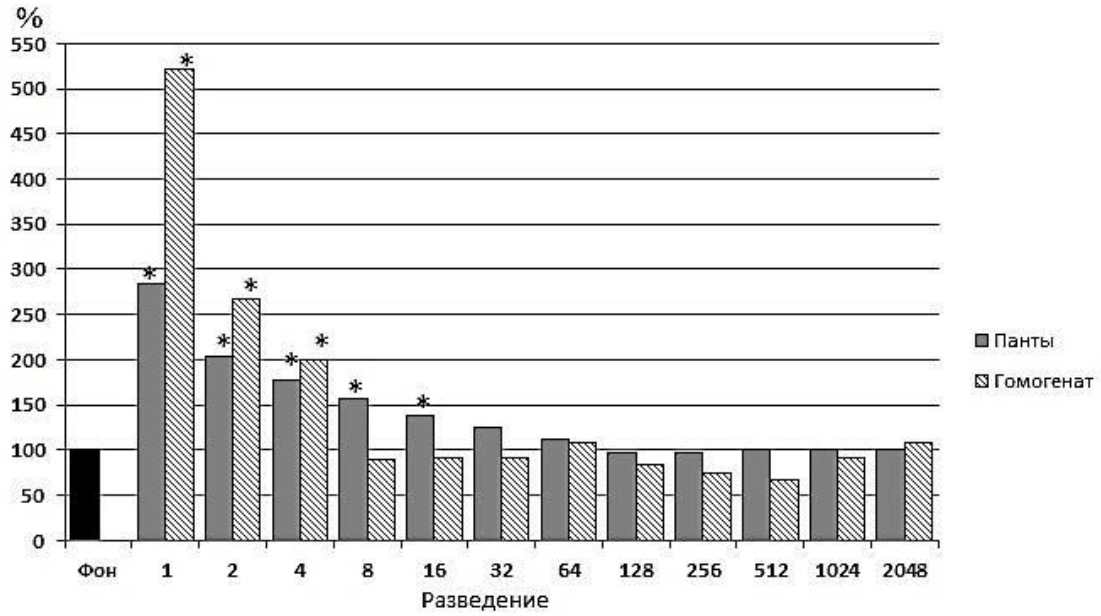


Рис. 1. Влияние разведения гомогената трутневой личинки и пантов марала на активность эритроидных колониеобразующих единиц типа КОЕ-Э
*Достоверные значения относительно фоновых значений (P < 0,05)

Как показано на рисунке 2, гомогенат трутневой личинки обладает более выраженной активностью и по отношению к способности костномозговых нуклеаров образовывать гранулоцитарные колонии в системе *in vitro*.

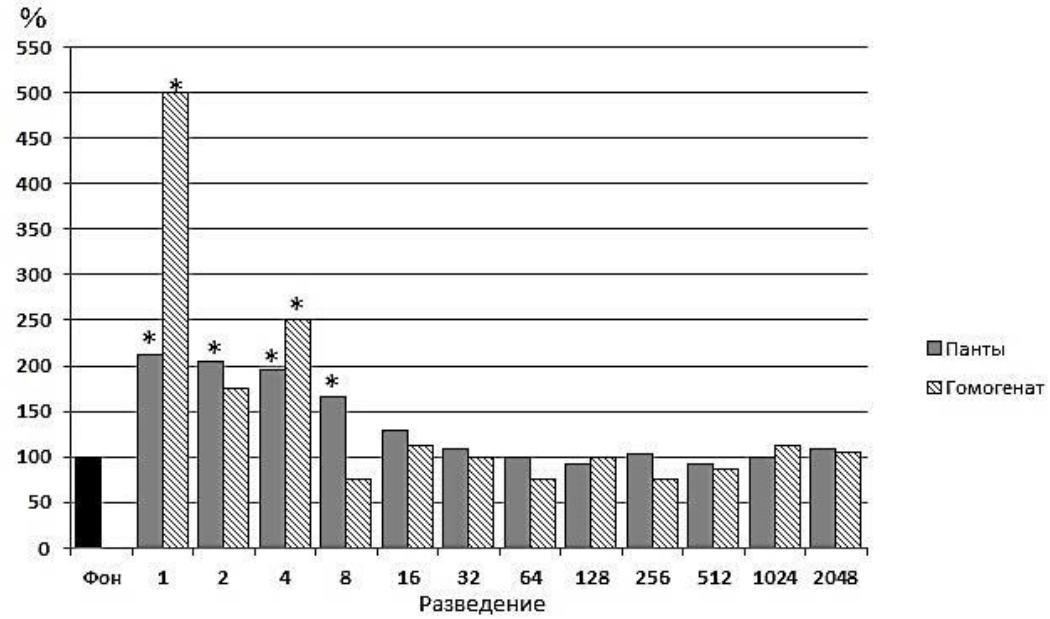


Рис. 2. Влияние разведения гомогената трутневой личинки и пантов марала на активность гранулоцитарных колониеобразующих единиц типа КОЕ-Г
*Достоверные значения относительно фоновых значений (P < 0,05)

Количество колоний при добавления неразведенного гомогената трутневой личинки было в 5 раз больше фоновых значений. При разведении в 8 раз стимулирующая активность отсутствовала — число колоний было на уровне фоновых значений. Извлечение из пантов марала показало меньшую стимуляцию колониеобразования, чем гомогенат трутневой личинки — в 2,2 раза выше фона. Стимулирующий эффект сохранялся вплоть до восьмикратного разведения, где число колоний было более чем в 1,5 раз больше фоновых значений.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что гомогенат трутневой личинки и водное извлечение из пантов марала оказывают выраженное стимулирующее влияние на колониеобразующую способность кроветворных клеток-предшественников. При этом активность гомогената трутневой личинки почти в 2 раза выше, чем активность извлечения из пантов марала. Однако стимулирующая активность пантов марала более устойчива — она сохраняется даже при больших разведениях, вплоть до восьмикратного разведения.

Библиографический список

Бурмистрова Л.А. Состав и биологическая активность трутневого расплода // Проблемы экологии и развития пчеловодства в России : материалы научн.-практ. конф. 25–27 августа / НИИП. Рыбное, 1999. С. 156–159.

Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. Роль гемопоэзиндуцирующего микроокружения в регуляции кроветворения при цитостатических миелосупрессиях. Томск, 1999. С. 33–84.

Клишина А.И. Влияние трутневого расплода на активность факторов неспецифической резистентности и функциональное состояние печени при острой интоксикации : дис. … канд. фарм. наук. Пятигорск, 2003. 178 с.

Красовская С.В. Разработка методик анализа отходов производства маточного молочка и таблеток тонизирующего и антигипоксического действия на их основе : дис. … канд. биол. наук. Пятигорск, 2009. 178 с.

Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М., 2012. Ч. I. 944 с.

A novel polypeptide from Cervus nippon Temminck proliferation of epidermal cells and NIH3T3 cell line / Shu-Wen Guan, Leng-XinDuan, Yuan-Yuan Li et al. // ActabiochimikaPolonica. 2006. Vol. 53, №2. P. 395–397.

Cervi cornus Colla (deer antler glue) induce epidermal differentiation in the reconstruction of skin equivalents / H.-R. Choi, K.-M. Nam, D.-S. Kim et al. // International Journal of Cosmetic Science. 2013. №35 (3). P. 1–5.

Immunomodulatory effects of a 3.2 kDa polypeptide from velvet antler of Cervus nippon Temminck / ZhaEnhui, LiXingxia, LiDandan et al. // International Immunopharmacology. 2013. Vol. 16. P. 210–213.

Sunwoo H.H., Nakano T., Sim J.S. Effect of water–soluble extract from antler of wapiti (Cervus elaphus) on the growth of fibroblasts // Canadian Journal of Animal Science. 1997. №77 (2). P. 343–345.

УДК 581.1

Е.А. Гумерова[1], А.В. Плотникова[2], К.Р. Шкильменская[2], Р.Г. Тухбатуллина[2], Н.И. Румянцева[1]

[1]Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН (Казань, Россия)

[2]Казанский государственный медицинский университет (Казань, Россия)

ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *GLAUCIUM FLAVUM* CRANTZ *(PAPAVERACEAE)*

Мачок желтый — ценное лекарственное растение, содержащее фармакологически активные алкалоиды апоморфиновой группы. Предложенные способы стерилизации семян и индукции каллусообразования мачка желтого позволяют получить 100% выход

асептического материала для дальнейшего культивирования *in vitro* и практически 100% формирование гетерогенного каллуса предположительно морфогенной природы.

***Ключевые слова**:* мачок желтый *Glaucium flavum* Crantz *(Papaveraceae)*, проростки, каллусные культуры, инициация каллусных культур, алкалоиды, апорфины.

E.A. Gumerova[1], A.V. Plotnikova[2], C.R. Shkilmenskaya[2], R.G. Tukhbatullina[2], N.I. Rumyantseva[1]

[1]Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, KSC RAS (Kazan, Russia)

[2]Kazan State Medical University (Kazan, Russia)

CALLUS INDUCTION IN YELLOW HORNPOPPY *GLAUCIUM FLAVUM* CRANTZ *(PAPAVERACEAE)*

Yellow hornpoppy is a valuable medicinal herb containing pharmacologically active alkaloids of apomorphine group. The proposed sterilization and callus induction methods in yellow hornpoppy make it possible to obtain 100% yield aseptic material for further cultivation *in vitro* and the initiation of virtually 100% of the heterogeneous suspectedly morphogenic callus.

Key words: yellow hornpoppy *Glaucium flavum* Crantz *(Papaveraceae)*, germination, seedlings callus culture, initiation of callus culture, alkaloids, aporphines.

Мачок желтый (*Glaucium flavum* Crantz) содержит не менее 18 изохинолиновых алкалоидов апоморфиновой группы, совокупность которых обладает широким спектром фармакологической активности [Рожанец, 2004, с. 69]. Относится к фармокопейным растениям, возделывается в культуре. Количественный состав алкалоидов *Glaucium flavum* может сильно отличаться в зависимости от места и условий произрастания [Peled et al., 1988, p. 1021–1034]. В связи с этим целью данной работы было введение растения в культуру *in vitro* для возможного его использования в качестве источника ценных соединений.

Материалы и методы

Семена мачка желтого были получены из ботанического сада лекарственных растений КГМУ. Для стерилизации семян использовали этиловый спирт, 50% раствор коммерческого отбеливателя «Белизна», содержащего в качестве активного вещества гипохлорит натрия, и применяли следующие схемы: 1) 15 мин в растворе «Белизны»; 2) 2 мин в этиловом спирте, затем 15 мин в растворе «Белизны»; 3) предварительное замачивание в воде в течение одного часа, затем 15 мин в растворе «Белизны». Для удаления стерилизующего агента семена промывали три раза в стерильной дистиллированной воде и высаживали для прорастания на соответствующие среды.

Простерилизованные семена переносили для проращивания на чашки Петри с безгормональными агаризованными средами $MS_{б/г}$ [Murashige et al., 1962, p. 473–497] и $RX_{б/г}$ [Gamborg et al., 1968, p. 151–158] (табл. 1). Эти же среды использовали для дальнейшего поддержания полученных растений. Для инициации каллуса использовали различные варианты гормональных агаризованных сред RX и MS с различным содержанием гидролизата казеина (ГК): 1, 2 г/л и без него (соответственно RX/ГК1, RX/ГК2, RX/ГК0 и MS/ГК0) (табл. 1). Эксплантами для индукции каллусогенеза служили семена мачка желтого непосредственно сразу после процедуры стерилизации и части полученных растений (семядоли с апикальной почкой, гипокотиль, корень, 1-й и 2-й настоящие листья) в возрасте двух недель и одного месяца, выращенных в условиях *in vitro*.

Таблица 1

Среды, используемые для проращивания семян и поддержания растений мачка желтого и индукции каллусогенеза, мг/л

Компоненты среды	$MS_{б/г}$	$RX_{б/г}$	MS/ГК0	RX/ГК0	RX/ГК1	RX/ГК2
MS макро- и микросоли	+		+			
B_5 макро- и микросоли		+		+	+	+
Мезоинозит	100	100	100	100	100	100
Тиамин·HCl	2	2	2	2	2	2
Пиридоксин·HCl	1	1	1	1	1	1
Никотиновая кислота	1	1	1	1	1	1
Гидролизат казеина	-	2 000	-	-	1 000	2 000
Сахароза	25 000	25 000	25 000	25 000	25 000	25 000
2,4-Д			2,0	2,0	2,0	2,0
ИУК			0,5	0,5	0,5	0,5
НУК			0,5	0,5	0,5	0,5
Кинетин			0,2	0,2	0,2	0,2
Агар-агар	8 000	8 000	8 000	8 000	8 000	8 000
pH	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6

Проращивание семян и индукцию каллусогенеза проводили в термостате в темноте при температуре 25 °С. Проросшие семена выращивали при искусственном освещении (5000 лк) с фотопериодом 16/8 часов (свет/темнота). Проростки с двумя настоящими листьями отделяли от корней и пересаживали в 100 мл конические колбы для дальнейшего культивирования в аналогичных условиях. Экспланты периодически просматривали для определения степени образования каллусной ткани и оценки ее цвета, консистенции и морфологии.

Результаты и обсуждение

Стерилизация семян и проращивание. При получении асептического материала важно по окончании процедуры стерилизации получить материал, свободный от микроорганизмов, при условии сохранения его жизнеспособности и способности к образованию каллусной культуры. Недостаточность литературных данных об особенностях роста *Glaucium flavum in vitro*, неизвестность степени контаминации и всхожести полученных семян стали причиной использования трех схем стерилизации. Этанол применяли для повышения эффективности действия «Белизны», а предварительное замачивание — для улучшения прорастания семян. В результате проведенных экспериментов оказалось, что все три способа стерилизации обеспечивают 100% деконтаминацию. Семена мачка желтого начали прорастать через одну неделю, через две недели взошли все семена (рис. 1).

Разница во всхожести семян между примененными схемами стерилизации была незначительной и касалась времени прорастания. Семена, дополнительно обработанные этанолом, начали наклевываться на 1–2 дня раньше, возможно, благодаря эффекту скарификации.

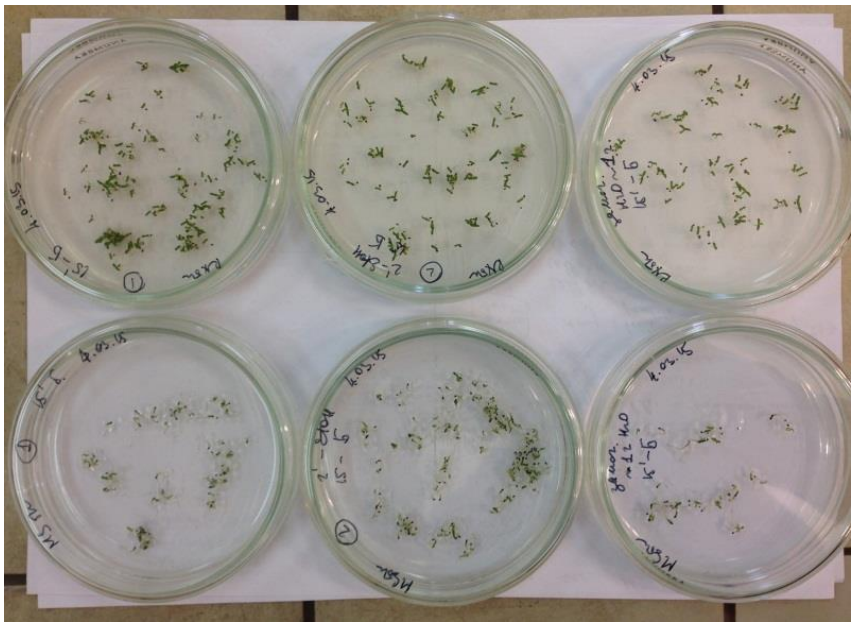


Рис. 1

Инициация каллусообразования. Для инициации каллусообразования использовали семена сразу после стерилизации и экспланты из растений в возрасте двух недель и одного месяца с момента высадки семян. Семена использовали без дополнительного нарушения целостности кожуры (оболочки). Двухнедельные растеньица делили на три экспланта следующим образом: семядоли с апикальной почкой, гипокотиль и корень. У одномесячных растений в виде эксплантов использовали семядоли, 1-й и 2-й настоящие листья.

Простерилизованные семена и экспланты из двухнедельных растеньиц помещали на среду RX/ГК2. Инициацию каллусообразования можно было наблюдать на отдельных эксплантах из растеньиц к концу первой недели культивирования. Через месяц все экспланты из растений образовали первичный каллус (табл. 2).

Таблица 2

Индукция каллусогенеза у двухнедельных проростков мачка желтого на среде RX/ГК2

Вид экспланта	Количество эксплантов, шт.	Каллусогенез через 30 дней,%
Гипокотиль	12	100
Корни	12	100
Семядоли	12	100

Каждый тип эксплантов имел свои особенности при формировании первичного каллуса. На семядолях он развивался у основания экспланта. При этом обращало на себя внимание отсутствие каких-либо изменений в области апикальной почки (рис. 2).

На гипокотилях каллус развивался вдоль сосудистых пучков, деформируя экспланта изнутри (рис. 3).

На корневых эксплантах образование каллуса наблюдали преимущественно в местах инициации придаточных корней (рис. 4).

Первичный каллус, особенно на гипокотилях, имел слегка коричневый цвет, был прозрачным, водянистым. На корнях формировался глобулярный каллус. Вторичный каллус почти на всех эксплантах обладал гетерогенной структурой, с присутствием среди мягкого каллуса проэмбриональных клеточных комплексов (ПЭКК), что позволяет предположить его морфогенную природу. Однако это предположение требует дальнейшей проверки.

Экспланты из семян в течение месяца не проявляли никакой активности. Затем отдельные зернышки стали увеличиваться в размерах, у них разрывалась семенная кожура, появлялся очень медленно нарастающий каллус (табл. 3). Отличительной особенностью всех эксплантов из семян было образование только гетерогенного каллуса с ПЭКК (рис. 5).

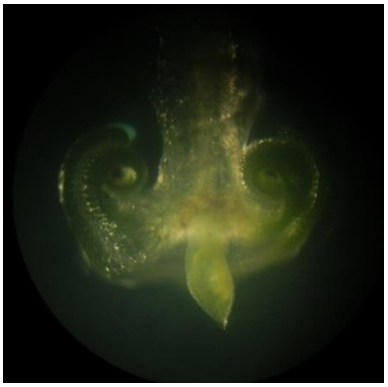


Рис. 2

Рис. 3

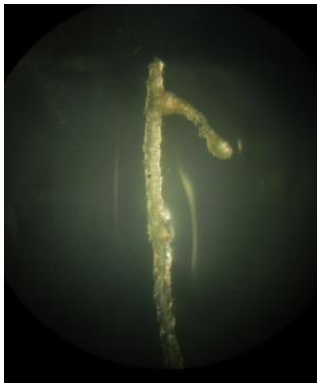


Рис. 4

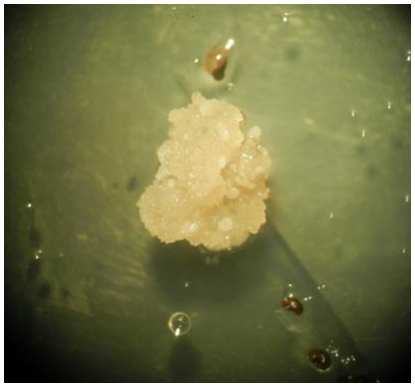


Рис. 5

Из одномесячных растений использовали следующие экспланты: семядоли, 1-й и 2-й настоящие листья. Экспланты помещали на среды с различным составом минеральных солей и содержанием ГК (табл. 1). В литературе имеются противоречивые данные о влиянии ГК на инициацию каллуса [George et al., 2008, p. 65–113]. По всей видимости, это во многом определяется видовой принадлежностью растения. Представляет интерес, какое действие оказывает ГК на эти процессы у мачка желтого. Формирование каллуса наблюдали уже через неделю культивирования на всех эксплантах, кроме семядолей. Лучше всего первичный каллус развивался на вторых настоящих листьях. На всех эксплантах каллус формировался у основания листьев/семядолей в области срединной жилки.

Таблица 3

Индукция каллусогенеза у семян мачка желтого на среде RX/ГК2, %

Эксплант	Количество эксплантов	Продолжительность культивирования, сут.		
		41	50	63
Семена	198	3,5	8,1	11,6

Таблица 4

Индукция каллусогенеза у одномесячных проростков мачка желтого на различных средах, %

Эксплант	Продолжительность культивирования, сут.		
	8	17	30
MS/ГК0			
Семядоли	0,0	12,9	45,0
1-й настоящий лист	3,6	21,8	83,6
2-й настоящий лист	16,1	35,7	96,4
RX/ГК0			
Семядоли	0,0	16,7	85,7
1-й настоящий лист	-	-	-
2-й настоящий лист	25,8	54,8	93,1
RX/ГК1			
Семядоли	0,0	63,3	90,0
1-й настоящий лист	21,7	78,3	100,0
2-й настоящий лист	26,1	56,5	100,0
RX/ГК2			
Семядоли	0,0	17,2	82,1
1-й настоящий лист	3,6	35,7	96,3
2-й настоящий лист	30,0	70,0	100,0

Примечание: (-) эксперимент не проводили.

Из сред для индукции каллуса наиболее предпочтительной оказалась среда RX/ГК1 из-за сочетания эффективного каллусогенеза и пониженного содержания ГК, который является дорогостоящим соединением, добавляемым в среды для роста растительных культур. Таким образом, нами впервые разработаны эффективные способы получения асептического материала и индукции каллусных культур мачка желтого — продуцента фармакологически ценных алкалоидов.

Библиографический список

Рожанец В.В. Мачок желтый (*Glaucium flavum*) // Наркология. 2004. №5. С. 69–72.

Peled B., Waisel У., Carmeli S. Alkaloid content in various chemoecotypes of Glaucium flavum from Israel // Phytochemistry. 1988. V. 27 (4). P. 1021–1034.

Murashige Y., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473–497.

Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. Plant cell cultures. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // Exp. Cell Res. 1968. V. 50. P. 151–158.

George E.F., Hall M.A., De Klerk G.-J. The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro- and Micro-Nutrients // Plant Propagation by Tissue Culture, V. 1. Springer. 2008. P. 65–113.

УДК 615.324

В.В. Кейно[1,2], К.В. Горячева[1,2], И.В. Смирнов[1]

[1]Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

[2] Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул, Россия)

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К СТАНДАРТИЗАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Одним из перспективных источников сырья для производства препаратов, обладающих гемостимулирующей активностью, являются панты марала. Проведенные исследования показывают, что перспективы исследований есть, однако в первую очередь необходимо заняться стандартизацией сырья. Существующая нормативная документация, государственные стандарты описывают требования к сравнительно небольшому количеству параметров: внешний вид, содержание золы и влаги. Оценка активности веществ не производится, так как не ясно, какие группы веществ следует считать действующими. Вследствие этого необходимы новые подходы к стандартизации и оценке качества сырья пантов марала.

***Ключевые слова**:* гемостимулирующее средство, сырье животного происхождения, панты марала.

V.V. Keino[1,2], K.V. Goryacheva[1,2] , I.V. Smirnov[1]

Altai State University (Barnaul, Russia)

Altai State Medical University (Barnaul, Russia)

NEW APPROACHES TO STANDARDIZATION OF VARIOUS RAW MATERIALS OF ANIMAL ORIGIN

One of the most promising sources of raw materials for production of drugs with activity hemostimulating are antlers of young Siberian stag. Studies have shown that the raw materials is perspective, but there is no standardization of the biological raw material. The existing normative documents, state standards describe the requirements for a relatively small number of parameters: appearance, ash content and moisture. There are currently no methods for assessing the activity of compounds as there is no data on the active substance groups. Consequently, new approaches to the standardization and quality assessment of raw antlers of young Siberian stag.

***Key words**:* hemostimulating drug, raw materials, deer antler.

Введение. Панты марала являются достаточно интересным объектом научных исследований. Они обладают противовоспалительной, антиоксидантной, гепатопротекторной активностью [Shu-Wen Guan, 2007, с. 395–397; H.-R. Choi, 2013, с. 1–5]. Аминогликаны, выделенные из пантов марала, способны стимулировать регенерацию хрящевой ткани [Sunwoo, 1997, с. 715–721], полипептиды обладают иммуномодулирующей способностью [Zha Enhui, 2013, с. 210–213]. В настоящее время не существует адекватного метода для оценки качества пантов марала (ПМ). Разработаны ГОСТы, методические рекомендации, по которым оценка качества заключается во внешнем осмотре пантов, оценке влажности и зольности [ГОСТ 3573–76, ГОСТ 4227–76]. Можно предположить, что внешний вид не оказывает значимого влияния на состав пантов, другими словами, подобный метод визуального осмотра невозможно считать абсолютно правильным.

Безусловно, на качество пантов оказывает влияние окостенение, время срезки, возраст марала [Луницын, 2005, с. 43]. Однако параметры влажности и содер-

жания золы не имеют никакого отношения к действию и активности пантов, а также извлечений из них. Биологические исследования показывают, что не все требования, указанные в стандартах, достаточно четко отражают качество пантов. В подобных случаях, когда сложно выделить один компонент, так как действует группа соединений, принято определять сумму экстрактивных веществ, иногда в пересчете на стандартный компонент (например, флавоноиды в пересчете на рутин), однако неясно, что именно необходимо определять в пантах.

Для некоторых групп соединений, таких как сердечные гликозиды и сапонины, применяются биологические методы оценки активности. В случае с сердечными гликозидами известно, какие именно вещества являются активным началом, какие у них свойства. Тем не менее лишь биологическим методом возможно определить активность этих соединений. Несмотря на современные достижения в области физико-химических способов анализа именно он является ключевым в оценке качества извлечений из растительного сырья, содержащего сердечные гликозиды. Использование биологического метода оценки качества обещает быть довольно перспективным на первых этапах исследований, пока не выявлены активные вещества. Тем более, что других способов оценки качества пока не предложено.

Вышесказанное также относится и к такому малоизвестному продукту пчеловодства, как гомогенат трутневой личинки (ГТЛ). Его получают путем прессования трутневых сот. ГТЛ — это довольно перспективный объект научных исследований, что подтверждают проведенные эксперименты. Проблема стандартизации этого вида сырья в настоящий момент также не решена. В связи с этим изучение гемостимулирующих свойств ПМ и ГТЛ, а также разработка биологического метода стандартизации, позволяющего оценить их активность непосредственно на кроветворную систему, является достаточно актуальной задачей современной фармации. В настоящее время лишь биологическим методом возможно оценить и стандартизовать биологическую активность данных видов сырья.

Целью настоящего исследования являлось изучение гемостимулирующей активности гомогената трутневой личинки и пантов марала на модели цитостатической миелосупрессии, индуцированной циклофосфаном у мышей [Гольдберг, 1999, с. 34–84].

Материалы и методы исследования. Все эксперименты проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под редакцией А.Н. Миронова [Миронов, 2012, с. 759–766]. Для исследования использовали белых мышей массой 22–25 г, водное извлечение из пантов марала, а также гомогенат трутневой личинки.

Животных содержали в стационарных условиях вивария, где они получали стандартный корм и воду без ограничения. Миелосупрессию у экспериментальных групп вызывали однократным внутрибрюшинным введением циклофосфана — ЦФ (ОАО «Биохимик») в дозе 80 мг/кг в объеме 0,2 мл. Было сформировано шесть экспериментальных групп животных. Мыши первой группы были интактными (контроль, фоновые значения). Вторую группу составляли мыши, получившие однократную инъекцию ЦФ внутрибрюшинно в той же дозе. Мышам третьей группы вводили ЦФ, а также в день введения и в течение 4 сут. после введения ежедневно, один раз в день мышам вводили ГТЛ объемом 0,2 мл интрагастрально. Четвертой группе вводили ГТЛ по описанной выше схеме. У пятой группы моделировали миелосупрессию и вводили извлечение из пантов марала объемом 0,2 мл интрагастрально в течение пяти дней. Шестой группе вводили извлечение из пантов объемом 0,2 мл в течение пяти дней.

Заборы крови и костного мозга производили путем декапитации мышей, подвергнутых эвтаназии эфирным наркозом на 3, 5, 8, 10-е сутки. Производили подсчет общего количества эритроцитов (ОКЭ), общего количества лейкоцитов (ОКЛ) и общего количества кариоцитов (ОКК). Подсчеты производили в камере Горяева по общепринятым гематологическим методикам. Статистическую обработку производили с использованием U-критерия Манна — Уитни. Уровень статистической значимости считали достоверным, если вероятность ошибки не превышала 0,05.

Результаты и обсуждение. У группы миелосупрессии, получившей ЦФ (рис. 1), на 3 и 5-е сутки было отмечено снижение общего количества лейкоцитов до 23 и 15% соответственно от контрольных показателей, затем ОКЛ начал повышаться и на 10-е сутки достиг 69% от фоновых значений.

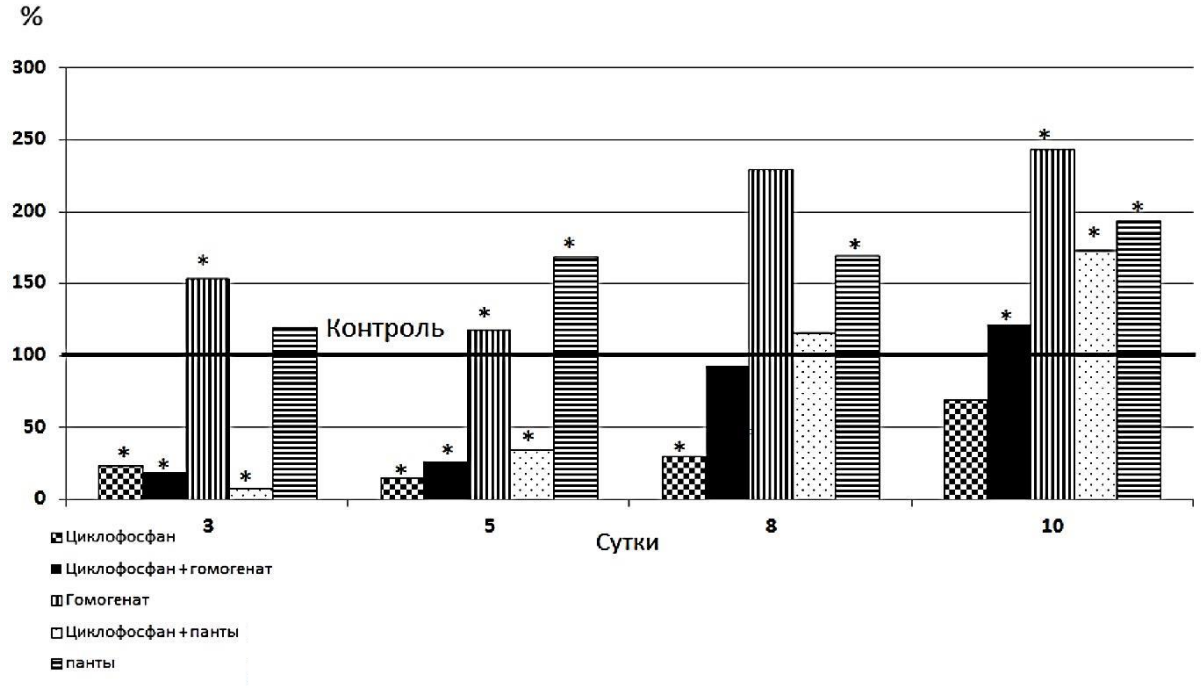


Рис. 1. Влияние ГТЛ и ПМ на динамику изменения общего количества лейкоцитов
* Достоверные значения относительно интактной группы ($P < 0,05$)

Введение ГТЛ на фоне миелосупрессии на третьи сутки приводило к еще большему угнетению лейкоцитарного ростка — до 18,5% от контроля. Далее при лечении ГТЛ было зарегистрировано гораздо более быстрое, по сравнению с группой миелосупрессии, восстановление ОКЛ, на 10-е сутки ОКЛ достиг 121% от контрольных показателей. Введение ПМ на фоне миелосупрессии вызывало на третьи сутки практически полное отсутствие лейкоцитов (10% от контроля), затем показатель начал расти, достигнув на 10-й день 172% относительно фоновых значений. Введение ГТЛ мышам без миелосупрессии уже на третьи сутки приводило к повышению ОКЛ до 153% от фоновых показателей. Затем регистрировалось незначительное снижение, однако на 10-е сутки показатель повысился до 242% от фоновых значений. При введении ПМ мышам без миелосупрессии уже на третий день вызывало повышение лейкоцитов, на 5–8-е сутки показатель был выше 150%, и на 10-е сутки ОКЛ достиг 193% от контрольных значений. Общее количество кариоцитов у группы миелосупрессии в течение всего эксперимента было значительно ниже показателей контрольной группы (рис. 2).

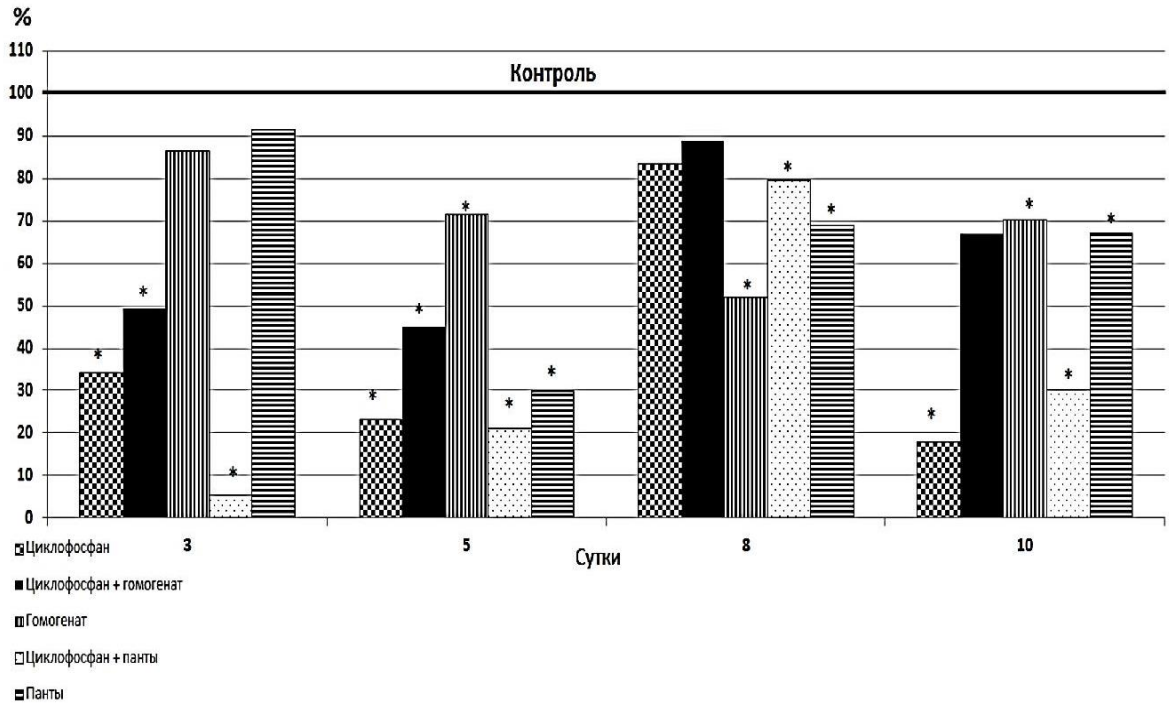


Рис. 2. Изменение общего количества кариоцитов
* Достоверные значения относительно интактной группы (P < 0,05)

У группы, получавшей ГТЛ помимо циклофосфана, показатель ОКК был выше соответствующих значений группы миелосупрессии, однако существенно ниже фоновых значений, на 8-е сутки наблюдалось максимальное значение ОКК — 89% от фоновых значений, после чего показатель опустился до 67%.

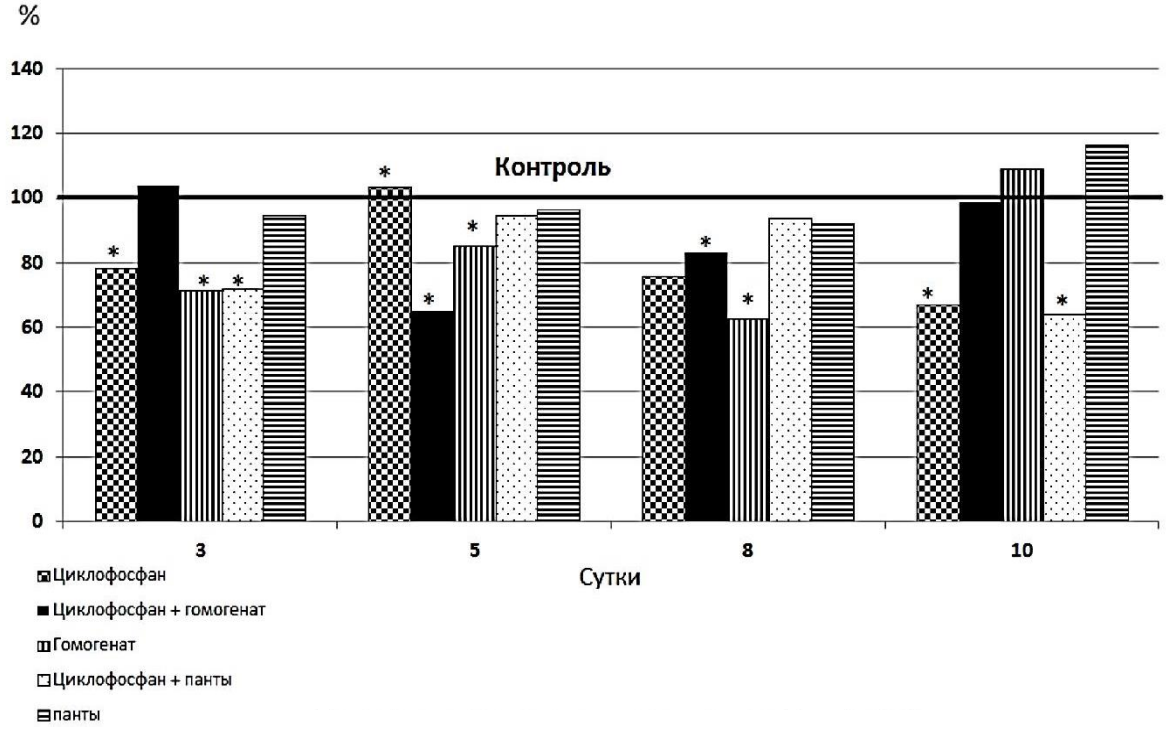


Рис. 3. Влияние ГТЛ и ПМ на динамику изменения общего количества эритроцитов
* Достоверные значения относительно интактной группы (P < 0,05)

Группа, получавшая ПМ на фоне введения циклофосфана, на третий день показала более сильное угнетение костного мозга по сравнению с группой миелосупрессии; на 5-е сутки показатели сравнялись; на 8-й день наблюдался скачок ОКК до 80% от контроля, а на 10-й день — снижение до 30% от фоновых значений.

У группы, получавшей только ГТЛ, показатель ОКК на 8-е сутки был ниже показателей других групп, на 10-е сутки превысил их и составил 70% от контрольных значений.

У группы с применением пантов наблюдалось угнетение костного мозга с минимальным значением (30%) на 5-е сутки, на 8–10-е сутки показатель достиг 70% от контрольных значений.

Общее количество эритроцитов за время эксперимента у всех групп было ниже показателей контроля (см. рис. 3), лишь на 5-е сутки у группы миелосупрессии было зарегистрировано достоверное увеличение ОКЭ до 104% от фоновых значений.

На основе полученных результатов предлагаются следующие критерии качества сырья: сырье является качественным, если ОКЛ на 10-й день у групп циклофосфан+панты или циклофосфан+гомогенат не менее, чем в 1,5 раза выше, чем у группы миелосупрессии, при этом количество миелокариоцитов у групп циклофосфан+панты и циклофосфан+гомогенат на десятые сутки должно быть выше, чем значение ОКК у группы циклофосфана.

Библиографический список

Луницын В.Г. Пантовое оленеводство России : монография. Барнаул, 2004. 582 с.

Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. Роль гемопоэзиндуцирующего микроокружения в регуляции кроветворения при цитостатических миелосупрессиях. Томск, 1999. С. 33–84.

ГОСТ 3573–76. Панты пятнистого оленя консервированные. Технические условия. Взамен ГОСТ 3573–47 ; введ. 01.06.77 // Помощь по ГОСТам [Электронный ресурс]. URL: http://www.gosthelp.ru/gost/gost15991.html.

ГОСТ 4227–76. Панты марала и изюбра консервированные. Технические условия. Взамен ГОСТ 4227–48 ; введ. 01.06.77 // Агентство научно-технической информации «Sciteclibrary» [Электронный ресурс]. URL : http://www.sciteclibrary.ru/gost/Index/25/25376.htm.

Быков В.Л. Цитология и общая гистология: функциональная морфология клеток и тканей человека. СПб., 2002. 520 с.

Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М., 2012. Ч. I. 944 с.

A novel polypeptide from Cervus Nippon Temminck proliferation of epidermal cells and NIH3T3 cell line / Shu-Wen Guan, Leng-XinDuan, Yuan-Yuan Li et al. // Actabiochimika Polonica. 2006. Vol. 53, №2. P. 395–397.

Cervi cornus Colla (deer antler glue) induce epidermal differentiation in the reconstruction of skin equivalents / H.-R. Choi, K.-M. Nam, D.-S. Kim et al. // International Journal of Cosmetic Science. 2013. №35 (3). P. 1–5.

Glycosaminoglycans from growing antlers of wapiti (Cervus elaphus) / H.H. Sunwoo, L.Y.M. Sim, T. Nakano et al. // Canadian Journal of Animal Science. 1997. 77 (4). P. 715–721.

Immunomodulatory effects of a 3.2 kDa polypeptide from velvet antler of CervusnipponTemminck / Zha Enhui, Li Xingxia, Li Dandan et al. // International Immunopharmacology. 2013. Volume 16. 2013. P. 210–213.

УДК 616.613-003.7-039.31

А.В. Кнутов[1], А.Э. Антонян[1], К.А. Кильбергер[1], А.Ю. Кузнецов[1], А.Е. Груздева[3], В.Н. Басалыга[3], Т.М. Конышкина[1], О.В. Руина[1], С.В. Семенникова[1], Ф.А. Севрюков[2], Р.С. Рахманов[3], А.Б. Строганов[1]

[1]Нижегородская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ (Нижний Новгород, Россия)

[2]Дорожная клиническая больница на ст. Горький ОАО «РЖД» (Нижний Новгород, Россия)

[3]Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии Роспотребнадзора (Нижний Новгород, Россия)

ПРИМЕНЕНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО СОСНОВОГО ЭКСТРАКТА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ УРОЛИТИАЗА

Произведена оценка первого опыта и дальнейших перспектив использования углекислотного экстракта молодых побегов сосны отечественного производства в комплексном лечении пациентов с мочекаменной болезнью для улучшения результатов и профилактики рецидивов. На фоне комплексного лечения снижалось количество приступов почечных колик и их выраженность по шкале ВАШ (6,47 ± 0,4 и 8,8 ± 0,26 (p = 0,0001). Самостоятельное отхождение камней на фоне комплексного лечения наблюдали в 1,8 раза чаще. Отмечено улучшение показателей анализов мочи, снижение количества лейкоцитов, белка, бактерий, слизи и солей у пациентов, принимавших продукт отечественного производства, содержащий криогенный углекислотный экстракт молодых побегов сосны.

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, комплексное лечение, фитотерапия и профилактика.

A.V. Knutov[1], A.E. Antonyan[1], K.A. Kilberger[1], A.Yu. Kuznetsov[1], A.E. Gruzdeva[3], V.N. Basalyga[3], T.M. Konyshkina[1], O.V. Ruina[1], S.V. Semennikova[1], F.A. Sevryukov[2], R.S. Rakhmanov[3], A.B. Stroganov[1]

[1] Nizhny Novgorod State Medical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation (Nizhny Novgorod, Russia)

[2]Road Clinical Hospital art. Gorky "Russian Railways" (Nizhny Novgorod, Russia)

[3]Nizhny Novgorod Institute of Hygiene and Occupational Pathology of Rospotrebnadzor (Nizhny Novgorod, Russia)

PINE EXTRACT DOMESTIC USE IN COMPLEX TREATING UROLITHIASIS

The paper evaluated the first experience and the future prospects of the use of carbon dioxide extract of young shoots of pine domestic production in the complex treatment of patients with urolithiasis to improve outcomes and relapse prevention. Against the background of complex treatment reduces the number of attacks of renal colic, and their severity by VAS (6,47 ± 0,4 and 8,8 ± 0,26 (p = 0.0001). Self-discharge of stones on a background of complex treatment was observed in 1, 8 times more. It was noted improvement in urine, reducing the number of white blood cells, protein, bacteria, slime and salt in patients treated with the product of domestic production, comprising cryogenic carbon dioxide extract of young shoots of pine.

Key words: urolithiasis, complex treatment, herbal medicine and prevention.

Лечение уролитиаза является длительным, многокомпонентным и многоэтапным процессом. Рецидивы данного заболевания также тесно связаны с особенностями проживания, характером труда, двигательной активностью, режимом и качеством питания, а также потребления жидкости. Все эти факторы значительно

ухудшают прогноз, так как известно, что все пациенты с мочекаменной болезнью должны систематически проходить обследование согласно принятым клиническим рекомендациям и стандартам. При этом неинвазивным способам лечения, в том числе с использованием физиотерапевтических методов, а также фитотерапии отводится особое место [Способ лечения..., 2009; Способ консервативного..., 1994; Способ комплексного..., 2013]. Именно преимуществам комплексного подхода к лечению пациентов, страдающих мочекаменной болезнью, для улучшения результатов и профилактики камнеобразования посвящено данное исследование.

Целью исследования являлось изучение результатов комплексного применения в лечении пациентов с уролитиазом и в профилактике его рецидивов углекислотного экстракта молодых побегов сосны отечественного производства (далее — сосновый экстракт).

Материалы и методы исследования. Исследованный продукт является биологически активным веществом, производимым для употребления в пищу ЗАО «Биофит» (Нижний Новгород) по инновационной криогенной технологии. Состав соснового экстракта исследован на базе Научно-исследовательского института химии при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского. На основе проанализированного состава можно заключить, что углекислотный экстракт молодых побегов сосны на 30% состоит из нейтральных веществ, 60% составляют кислоты. Высшие жирные и смоляные кислоты данного продукта имеют обычный для экстрактивных веществ древесной зелени состав с преобладанием значительной доли смоляных кислот. Основную массу нейтральных веществ составляют спирты и карбонилсодержащие соединения. Омыляемая часть нейтральных веществ представляет собой сложные эфиры высших жирных кислот. Активными веществами данного продукта являются: бета-ситостерин, хлорофилл, витамины С, К, Е, каротиноиды, полиненасыщенные жирные кислоты, кобальт, железо, марганец, цинк, медь, анетол, борнеол, камфен, бета-пинен, фенхон, цинеол. Вспомогательные вещества — масло растительное. Данный продукт представлял собой желатиновые капсулы по 200 мг.

Полиненасыщенные жирные кислоты также способствуют разрушению и выведению мочевых конкрементов. Терпены (борнеол и т.д.) в результате метаболизма выводятся с мочой в виде глюкуронидов, улучшая растворимость солей кальция в составе мочевых конкрементов. На фоне спазмолитического действия должны улучшиться условия для эвакуации мочевых конкрементов по мочевыводящим путям, уменьшиться выраженность болевого синдрома, усилиться почечный кровоток, улучшиться функция почек и увеличиться диурез. Бета-ситостерин, также содержащийся в данном продукте, предотвращает развитие аденомы предстательной железы. Кроме того, ожидается, что исследуемый продукт должен обладать антимикробным и противогрибковым действием.

Клиническую часть работы проводили на базе урологического центра НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Горький ОАО «РЖД» (далее — Центр). Всего в исследование вошло 30 пациентов с уролитиазом. Из них — 19 (63,3%) мужчин и 11 (36,7%) женщин.

Критериями включения являлись: возраст пациентов от 19 до 72 лет; наличие диагностированных конкрементов почек и мочеточников; почечная колика различной выраженности (согласно визуальной аналоговой шкале (ВАШ) [Huskisson, 1974]; хронического пиелонефрита; хронического цистита; хронического простатита и наличие гиперплазии предстательной железы. В исследование не вошли пациенты, принимавшие антикоагулянты, а также пациенты с анурией, тяжелой инфекцией мочевыводящих путей и больные с индивидуальной непереносимостью компонентов продукта в анамнезе.

Комплексный анализ характеристики пациентов с болезнями мочеполовой системы (XIV класс по МКБ X пересмотра), поступивших для обследования и лечения в Центр, показал наличие сопутствующей патологии с преобладанием следующих классов: болезни органов пищеварения (XI) — 21 (70%); болезни системы кровообращения (IX) — 18 (60%); болезни органов дыхания (X) — 6 (30%). При проведении предоперационной диагностики у пациентов выявили следующие размеры конкрементов: до 10 мм — 7 (23,3%) случаев, от 11 до 20 мм — 17 (56,7%), от 21 до 40 мм — 4 (13,3%) и более 40 мм — 2 (6,7%). В 10 (33,3%) случаях процесс носил рецидивирующих характер, а у 9 (30%) больных конкременты диагностировали с обеих сторон. Большинство из пациентов поступили в Центр в экстренном порядке — 19 (63,3%) больных поступило с клиникой почечной колики. У 7 (23,3%) пациентов диагностировали хронический пиелонефрит, в 2 (6,7%) случаях выявили врожденную аномалию развития почек (полное удвоение почки).

Полученные данные явились основой для включения соснового экстракта в комплексное лечение пациентов с мочекаменной болезнью для улучшения результатов и профилактики рецидивов заболевания. До начала лечения с использованием данного продукта, при выписке из стационара, а также через месяц после проведения комплексного лечения, в том числе в амбулаторных условиях, всем пациентам были проведены диагностические мероприятия согласно принятому в Центре протоколу обследования и стандартам. Анализ эффективности исследуемого продукта включал в себя тщательный динамический контроль за всеми пролеченными пациентами. Всех пациентов разделили на две равнозначные по полу, возрасту, основной и сопутствующей патологии группы: группа 1 — комплексное лечение с использованием соснового экстракта (по одной капсуле 3 раза в день внутрь во время или после еды, запивая стаканом воды; при почечной колике дозу увеличивали до 2–3 капсул 3–5 раз в день) и группа 2 — контроль.

Результаты и обсуждение. При использовании продукта, содержащего сосновый экстракт, было отмечено улучшение условий для разрушения и эвакуации мочевых конкрементов. Вероятно, это было связано с усилением на фоне приема данного продукта спазмолитического эффекта стандартной консервативной терапии, что способствовало эвакуации конкрементов по мочеточнику, снижало выраженность болевого синдрома, повышало диурез, а также приводило к исчезновению бактериурии. Во второй группе самостоятельное отхождение камней наблюдали в 1,8 раза реже, чем в первой. Кроме того, у пациентов первой группы, по сравнению со второй, количество приступов почечных колик и их выраженность по шкале ВАШ были достоверно меньшими — $6,47 \pm 0,4$ и $8,8 \pm 0,26$ ($p = 0,0001$). На фоне приема продукта, содержащего сосновый экстракт, у пациентов первой группы также была отмечена положительная динамика в анализах мочи — уменьшилось количество лейкоцитов, белка, бактерий, слизи и солей. Переносимость исследованного продукта была хорошей, побочные эффекты не выявлены ни в одном случае. Кроме того, у пациентов первой группы было отмечено повышение суточного диуреза, что также способствовало более быстрой эвакуации мочевых конкрементов.

В настоящее время клиническая эффективность продукта, содержащего сосновый экстракт отечественного производства для лечения пациентов, страдающих мочекаменной болезнью, не подлежит сомнению. Подтверждено усиление литокинетического эффекта стандартной комплексной терапии за счет спазмолитического действия свойства исследованного продукта, снижения выраженности болевого синдрома при почечных коликах и уменьшение их частоты, а также противовоспалительного и противомикробного эффектов.

Таким образом, на основе проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Продукт, содержащий сосновый экстракт отечественного производства, может быть рекомендован в составе комплексной терапии пациентов с мочекаменной болезнью, особенно в случаях, осложненных хроническим пиелонефритом, почечной коликой, а также при частых рецидивах образования мочевых конкрементов.

2. По данным исследования отмечено снижение выраженности болевого синдрома при почечной колике, а также частота болевого синдрома на фоне продвижения мочевых конкрементов по мочеточнику.

3. В период приема продукта, содержащего сосновый экстракт, отрицательных побочных явлений в виде непереносимости или аллергических реакций не отмечено.

4. По данным динамического исследования до лечения и через один месяц от начала приема продукта, содержащего сосновый экстракт, в комплексе с консервативным или малоинвазивным оперативным лечением отмечено улучшение показателей анализов мочи — уменьшилось количество лейкоцитов, белка, бактерий, слизи и солей.

5. Несмотря на свою эффективность и безопасность, для включения продукта, содержащего сосновый экстракт отечественного производства, в комплексное лечение и профилактику мочекаменной болезни у пациентов с частыми рецидивами образования мочевых конкрементов необходимо проведение дальнейших рандомизированных исследований с большим числом наблюдений.

Библиографический список

Способ лечения мочекаменной болезни / А.В. Новиков и соавт. Патент на изобретение РФ №2360679. A61N1/32, A61N5/06, опубл. 10.07.2009.

Способ консервативного лечения мочекаменной болезни / В.А. Павлючук и соавт. Патент на изобретение РФ №2008884. A61H23/00, опубл. 15.03.1994.

Способ комплексного физиотерапевтического лечения и профилактики рецидивов мочекаменной болезни / С.В. Семенникова и соавт. Патент на изобретение РФ №2502532. A61N7/00, A61N5/067, A61N2/04, опубл. 27.12.2013.

Huskisson E.C. Measurement of pain // Lancet. 1974. №2. V. 1127–1131.

УДК 615.322

М.А. Краснобородкина, М.С. Иванова, М.Г. Куцев

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

СКРИНИНГ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СРЕДИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФЛОРЫ АЛТАЯ МЕТОДОМ СКФ-ЭКСТРАКЦИИ

Рост резистентности бактерий к синтетическим антибиотикам делает актуальным поиск новых лекарственных материалов с антибиотическими свойствами. Противомикробные препараты на основе растений представляют собой огромный неиспользованный источник лекарственных средств. В этой работе изучены антибиотические свойства 34 видов растений флоры Алтая. Экстракты из растений получали сверхкритической флюидной экстракцией с использованием сверхкритического диоксида углерода. Антимикробную активность экстрактов определяли микрометодом серийных разведений в жидких средах. В качестве тест-культур использовали штаммы Escherichia coli XL-1 blue и Staphylococcus aureus. По результатам исследований для дальнейшей фармакологической оценки в качестве новых лекарственных материалов можно счи-

тать наиболее перспективными экстракты из сырья Penthaphylloides fruticosa и Ribes nigrum.

Ключевые слова: лекарственные материалы растительного происхождения, антибактериальная активность, сверхкритические флюидные CO_2-экстракты.

M.S. Krasnoborodkina, M.S. Ivanova, M.G. Kutsev

Altay State University (Barnaul, Russia)

SCREENING OF THE PROMISING PHYTOGENIC MEDICINAL MATERIALS AMONG THE PLANT SPECIES OF ALTAI FLORA BY SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION

The increase of bacterial resistance to synthobiotics makes it relevant to search for new medicinal materials with antibiotic properties. Antimicrobials based on plants represent a huge untapped source of medicines. Antibiotic properties of 34 plant species of Altai flora are studied in this paper. Extracts from plants were obtained by supercritical fluid extraction using supercritical carbon dioxide. Antimicrobial activity of these extracts was determined by micromethod of serial dilutions in liquid media. Escherichia coli XL-1 blue and Staphylococcus aureus strains were used as test-cultures. Upon the results of the study, the extracts from raw material of Penthaphylloides fruticosa and Ribes nigrum can be considered as the most promising for further pharmacological evaluation as new medicinal materials.

Key words: phytogenic medicinal materials, antibacterial activity, supercritical fluid CO_2-extracts.

Введение. На данный момент все более широкое применение в медицинской практике находят лекарственные средства растительного происхождения, обладающие малой токсичностью, мягкостью действия и редким проявлением аллергических реакций. Биологически активные вещества лекарственных растений могут быть эффективным дополнением в комплексной терапии инфекционных заболеваний, а фитопрепараты реже, чем традиционные антибиотические средства, вызывают формирование резистентных штаммов микроорганизмов. В настоящее время в Российской Федерации разрешено использование в медицинской практике около 320 видов лекарственных растений [Регистр..., 1998], это очень малая доля из всего биоразнообразия высших растений. Интерес к фитотерапии, значительно возросший в последние годы, а также необходимость выявления новых источников биологически активных веществ, способствуют исследованию ранее не востребованных объектов. Начальным этапом фитохимических исследований являются скрининговые работы. Они не предполагают детального изучения соединений, выявляя общие закономерности накопления различных групп веществ. Нами были проведены исследования антимикробной активности 34 видов из 19 семейств дикорастущих растений флоры Алтая.

Материалы и методы. Исследуемые растения или их части были собраны на территории Алтайского края и Республики Алтай (Россия) в 2013–2014 гг.: надземные части в фазу цветения, плоды во время плодоношения, подземные органы после плодоношения. Сырье высушивали на воздухе при температуре 25–35 °С до воздушно-сухого состояния.

В исследовании рассматриваются экстракты из растений, полученные при помощи сверхкритической флюидной экстракции (СКФ) с использованием сверхкритического диоксида углерода. В настоящее время это наиболее высокотехнологичный и перспективный метод обработки лекарственного растительного сырья, способный повысить эффективность производства фитопрепаратов и их качество.

Для получения растительных экстрактов использовалась лабораторная экстракционная система модели SFE-200-2-FM (США). Условия для оптимального выхода биологически активных веществ были подобраны экспериментально: вес высушенного измельченного сырья — 50 г, давление — 350 бар, температура — 60, скорость потока CO_2 — 20 г/мин, время –1 час.

Антимикробную активность полученных экстрактов определяли микрометодом серийных разведений в жидких средах [Веслополова, 1995, с. 279–284]. Этот метод позволяет определить минимальную подавляющую концентрацию (МПК) — основной количественный показатель, характеризующий микробиологическую активность антибактериального препарата. За МПК принимали дозу экстракта, полностью угнетающую рост тест-микроорганизма [Determination, 2004, p. 306–359]. В качестве тест-культур использовали штаммы Escherichia coli XL-1 blue и Staphylococcus aureus. Исследование антибактериальной эффективности каждого экстракта проводилось в трехкратной повторности. Эксперименты проводили в 96-луночных иммуноферментных планшетах. В каждом планшете осуществлялись серийные разведения 7 экстрактов, восьмой ряд использовался для контроля, в него вносили антибиотик широкого спектра действия — канамицин. Затем планшеты инокулировали приготовленной суспензией, содержащей стандартное количество жизнеспособных клеток бактерий, и добавляли краситель Alamar Blue. Подготовленные планшеты термостатировали в течение 6 часов при температуре 37 ± 1 °C. Краситель Alamar Blue необходим для визуализации эксперимента, так как при инкубировании с жизнеспособными клетками цвет реагента изменяется от синего к розовому и появляется флуоресценция [Rampersad, 2012, p. 12347–12360]. Учет результатов осуществляли путем измерения изменения флуоресценции с помощью микропланшетного ридера.

Результаты и обсуждение. Антимикробная активность СКФ-экстрактов некоторых растений флоры Алтая по отношению к E.coli и S. aureus приведена в таблице.

Влияние растительных CO_2-экстрактов на модельные штаммы микроорганизмов

Species name		Degree of dilution											
		*2	*4	*8	*16	*32	*64	*128	*256	*512	*1024	*2048	*4096
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	*12*	*13*	*14*
Carex duriuscula	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antennaria dioica	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus marshallianus	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Inula salicifolia	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inula helenium	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atriplex patula	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Geranium sibirica	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trollius altaicus	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hippophae ramnoides	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribes nigrum	A	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Hesperis sibirica	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Vaccinium vitis-idea	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Penthaphylloides fruticosa	A	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Onobrychis arenaria	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ranunculus submarginatus	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Papaver pseudocanescens	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Panserina lanata	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Caltha palustris	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Taraxacum officinale	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ziziphora clinopodioides	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spirea chamaedryfolia	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rosa acicularis	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ligularia altaica	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Humulus lupulus	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dracocephalum grandiflorum	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Fragaria vesca	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Chelidonium majus	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Betula pendula	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Valeriana officinalis	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polygonum aviculare	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Окончание таблицы

1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	*12*	*13*	*14*
Leonurus quinquelobatus	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Viburnum opulus	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bergenia crassifolia	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Urtica dioica	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: A — *E. coli*, B — *S. aureus*.

СКФ-экстракты 34 видов растений в разной степени обладают антибактериальной активностью. Максимальную активность проявили экстракты из сырья Penthaphylloides fruticosa (МПК — 0,0353 мг/мл) и экстракт из сырья Ribes nigrum (МПК — 0,283 мг/мл). Экстракты из этих растений были одинаково эффективны против обоих модельных штаммов микроорганизмов. В концентрации 0,566 мг/мл бактерицидное действие проявили извлечения из сырья 8 видов: Antennaria dioica, Thymus marshallianus, Hesperis sibirica, Onobrichis arenaria, Ranunculus submarginatus, Panserina lanata, Dracocephalum grandiflorum и Bergenia crassifolia. Экстракты остальных исследуемых видов растений проявили слабую антимикробную активность: бактерицидная доза 12 образцов (из сырья Inula salicifolia, Inula helenium, Trollius altaicus, Hippophae ramnoides, Caltha palustris, Taraxacum officinale, Ziziphora clinopodioides, Spirea chamaedryfolia, Rosa acicularis, Fragaria vesca, Valeriana officinalis, Polygonum aviculare) составила 1,132 мг/мл. Вероятно, антимикробные свойства СКФ-экстрактов некоторых из изученных растений обусловлены входящими в их состав эфирными маслами, представляющими собой многокомпонентные смеси летучих соединений [Макарчук и др., 1990, с. 171–183]. Проникая внутрь, эфирные масла, по-видимому, подвергают деструкции цитоплазматические мембраны микроорганизмов, что приводит к снижению их проницаемости и уменьшению активности аэробного дыхания микроорганизмов [Сидоренко, 1998, с. 28–34].

Заключение. СКФ-экстракты из 34 изученных растений флоры Алтая обладают противомикробным эффектом разной степени выраженности. Экстракты растений были более активны против S. aureus, чем против E. coli. Это согласуется с предыдущими докладами, что растительные экстракты более активны в отношении грамположительных бактерий, чем в отношении грамотрицательных бактерий [Rabe et al., 1997, p. 81–87]. Для дальнейшей фармакологической оценки в качестве новых лекарственных материалов можно считать наиболее перспективными экстракты из сырья Penthaphylloides fruticosa и Ribes nigrum.

Библиографический список

Веслополова Е.М. Микрометод определения численности колонеобразующих единиц микроорганизмов // Микробиология. 1995. Т. 64, вып. 2. С. 279–284.

Макарчук Н.М., Лещинская Я.С., Акимов Ю.А. Фитонциды в медицине. Киев, 1990. С. 171–183.

Регистр лекарственных средств России. М., 1998. 879 с.

Сидоренко С.В. Клиническое значение резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам // Рос. мед. вести. 1998. №1. С. 28–34.

Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics (Methodical instructions of MUK 4.2.1890-04) // Clinical Microbiology Antimicrobial Chemotherapy. 2004. №6 (4). P. 306–359.

Rabe T., Staden J. van. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes // J. Ethnopharmacol. 1997. №56. P. 81–87.

Rampersad S.N. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays // Sensors. 2012. №12. P. 12347–12360.

УДК 581.1

И.Н. Кузовкина[1], А.В. Гусева[2]

[1] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Москва, Россия)

[2] Томский сельскохозяйственный институт Новосибирского государственного университета (Томск, Россия)

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *IN VITRO* ГЕНЕТИЧЕСКИ ТРАНСФОРМИТРОВАННЫХ КОРНЕЙ ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО КАК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ФЛАВОНА С СЕЛЕКТИВНОЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

На примере генетически трансформированных корней *Scutellaria baicalensis*, полученных с помощью дикого штамма почвенной агробактерии, экспериментально доказано, что введенные в культуру *in vitro* длительно растущие hairy roots шлемника могут быть использованы в качестве альтернативного и экологически чистого лекарственного сырья, восполняющего дефицит или полное отсутствие естественно произрастающих растений. Многолетний мониторинг состава вторичных метаболитов hairy roots шлемника показывает, что изолированно растущие корни сохраняют способность к стабильному синтезу основных физиологически активных флавонов, характерных для корней целого исчезающего в Российской Федерации растения. В настоящее время особый интерес представляет флавон вогонин, который вызывает апоптоз только злокачественных клеток, не затрагивая при этом нормальные животные клетки. Изучение специфики и механизма селективной цитотоксической активности вогонина лимитировано низким содержанием флавона в корнях целого растения шлемника (около 1%) и отсутствием способов его химического синтеза. В ходе наших исследований показано, что некоторые биохимические и морфофизиологические особенности стабильно растущего *in vitro* штамма hairy roots шлемника могут послужить надежной основой для его использования с целью получения вогонина биотехнологическим путем: это доминирующее содержание в данном штамме hairy roots не байкалина, как в корнях целого растения, а вогонозида — глюкуронида вогонина, который под действием эндогенной для шлемника ß-глюкуронидазы (GUS) гидролизуется до агликона — вогонина. Предлагается стратегия крупномасштабного культивирования hairy roots и активирования в них в стационарной стадии роста фермента GUS за счет действия биотического стрессового фактора (кратковременного анаэробиоза корней), что приводит к существенному увеличению концентрации вогонина в корнях (до 2,5% на вес сухих корней). При учете круглогодичного выращивания корней в строго контролируемых условиях такой биоконверсионный способ получения вогонина (или сырья, обогащенного вогонином) может обеспечить проведение как доклинического тестирования селективной цитотоксичности флавона, так и его клинические испытания, что послужит основой для создания нового лекарственного препарата с таргетным механизмом действия.

Ключевые слова: *Scutellaria baicalensis*, hairy roots, флавоны, байкалин, байкалеин, вогонозид, вогонин, GUS.

I.N. Kuzovkina[1], A.V. Guseva[2]

[1]Timiryazev Institute of Plant Physiology of RAS (Moscow, Russia)

[2]Tomsk Agricultural Institute, Department of NSAU (Tomsk, Russia)

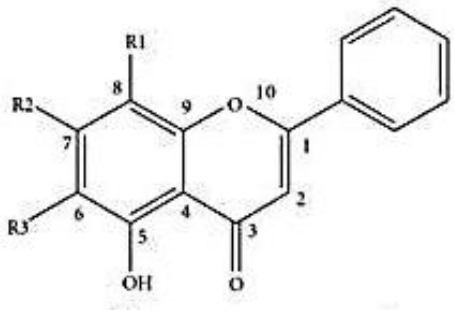
THE CULTIVATION *IN VITRO* OF GENETICALLY TRANSFORMED ROOTS OF SCUTELLARIA BAICALNSIS AS BIOTECHNOLOGICAL PATHWAY FOR PRODUCTION FLAVONE WITH SELECTIVE CYTOTOXIC ACTIVITY

It is experimentally proved on the example of genetically transformed roots *Scutellaria baicalensis*, obtained with wild strain of soil agrobacteria, that long-growing *in vitro* skullcap hairy roots can be used as an alternative and ecologically pure medicinal raw material to compensate for deficit or total absence plants in nature. Many years of monitoring secondary metabolites composition in skullcap hairy roots indicates that isolated roots retain the ability of stable synthesis main physiologically active flavones typical for roots of whole plant endangered in the Russian Federation. Nowadays special interest represent the lipophilic flavone wogonin which induces apoptosis only malignant cells without any affect on the normal animal cells. Study of specificity and mechanism of selective cytotoxic activity of wogonin is limited at the moment by low content of flavone in roots of whole plant skullcap (about 1%) and absence of (so far) its chemical synthesis methods. It has been shown in our studies that some biochemical and morphophysiological characteristics of stably growing *in vitro* strain of skullcap hairy roots can serve as a reliable basis for its using for wogonin production by biotechnological pathway: it is dominating content in this strain of hairy roots not baicalin like in the roots of whole plant but wogonoside — wogonin glucuronide, which by endogenous ß-glucuronidase of skullcap (GUS) is hydrolyzed to aglycone - wogonin. It is proposed the strategy of hairy roots large-scale cultivation and activation during stationary phase of growth of GUS enzyme by the effect of biotic stress factors (short-term anaerobiosis roots), which leads to significant increasing of wogonin concentration in the roots (up to 2.5% of dry roots). In accounting for year round cultivation roots in the strictly controlled conditions such bioconversion method for producing wogonin (or raw materials, enriched wogonin) may provide both pre-clinical testing of flavone selective cytotoxicity and its clinical tests, which will serve as the basis for establishment new drug with a targeted mechanism of action.

Key words: skullcap, hairy roots, flavones, baicalin, baicalein, wogonoside, wogonin, ß-glucuronidase.

Известно, что около 25% лекарственных препаратов, применяемых в современной медицинской практике, имеют растительное происхождение. Особое место в числе этих лекарственных средств занимают препараты с цитотоксической активностью, которые применяются при химиотерапии онкологических пациентов. В современной клинической практике обычно используются полусинтетические производные вторичных метаболитов таких растений, как *Vinca rosea* (винбластин, винкристин), *Colchicum autumnale* (колхицин), *Taxus baccata* (паклитаксел, доцетаксел), *Podophyllum peltatum* (этопозид, тенипозид) и *Camptotheca acuminate* (камптотецины). В основе цитотоксического действия современных препаратов растительного происхождения лежат различные механизмы дефрагментации ДНК или блокировки митотической активности онкогенных клеток, которые приводят к нарушению цикла их деления и в итоге к их гибели. Как известно, все химиотерапевтические препараты, в том числе и препараты растительного происхождения, оказывают одинаковое цитотоксические действие на онкогенные и нормальные клетки, что вызывает появление у пациентов миелосупрессии, которая развивается в результате неизбежного действия цитотоксических препаратов на процесс кроветворения. В результате у пациентов резко снижается иммунитет, появляются различные до-

полнительные осложнения. Поиск лекарственных средств растительного происхождения, обладающих способностью к селективной индукции апоптоза только опухолевых клеток, является трудной задачей. В связи с этим случайное выявление подобного низкомолекулярного соединения в растительном царстве, как это произошло с лекарственным растением *Scutellaria baicalensis*, достойно пристального внимания. Шлемник байкальский (*Sc. baicalensis* Georgi) — одно из древнейших лекарственных растений официальной и традиционной медицины Китая, Монголии, Японии, Кореи и России. В восточной иерархии целебных трав он занимает четвертое место после женьшеня. Ареал распространения шлемника в России постоянно сокращается ввиду того, что основным лекарственным сырьем растения являются корни, которые синтезируют физиологически активные флавоны. Размножается шлемник только семенами, и для его естественного возобновления требуется не менее 10–12 лет. Растение трудно поддается интродукции. В России шлемник байкальский был включен в Красную книгу в 1992 г., а лекарственный препарат на основе его корней исчез из Фармакопеи из-за отсутствия сырьевой базы для его приготовления. Основные флавоны шлемника: байкалеин, вогонин и их глюкурониды — байкалин и вогонозид, — являются физиологически активными компонентами спиртового экстракта корней шлемника, который обладает антимикробным, гипотензивным и седативным действием [Гольдберг и др., 1994] (рис. 1).



Compounds	R1	R2	R3
Baicalin	–H	–O–Glu	–OH
Baicalein	–H	–OH	–OH
Wogonoside	$–OCH_3$	–O–Glu	–H
Wogonin	$–OCH_3$	–OH	–H

Рис. 1. Структура основных флавонов корней шлемника байкальского: байкалина (BG), байкалеина (B), вогонозида (WG) и вогонина (W)

К настоящему времени экспериментально доказано, что флавоны шлемника обладают также гемостатическим, анксиолитическим, церебропротекторным и цитотоксическим действием [Дыгай и др., 2010; Gaire et al., 2014]. Начиная с 2007 г. особенный интерес фармакологов привлекает флавон вогонин, который, по данным японских исследователей, избирательно вызывает апоптоз только онкогенных клеток, не затрагивая при этом обычные клетки [Himeji et al., 2007]. Факт селективного действия вогонина подтвержден экспериментами *in vitro* и *in vivo,* проведенными исследователями Германии, Японии, Китая, Южной Кореи и США [Li-Weber, 2013; Kimura et al., 2011; Lin et al., 2012; Lee et al., 2007; Patel et al., 2013]. Низкая концентрация вогонина в корнях целого растения, составляющая не более 1%, и отсутствие способов его химического синтеза лимитируют исследования, связанные с изучением механизма селективного действия вогонина на рост онкогенных клеток. Эти затруднения обусловливают также невозможность проведения его клинических испытаний, результаты которых могут стать основой для создания нового цитотоксического препарата с таргетным механизмом действия.

Таким образом, появилась острая необходимость поиска новых приемов получения ценного цитотоксического флавона растительного происхождения. Цель настоящей работы состоит в разработке способа получения вогонина (и других ценных флавонов) биотехнологическим путем, а именно — с помощью выращива-

ния изолированно растущих корней шлемника байкальского, которые были введены в нашем институте в культуру *in vitro* 20 лет тому назад путем проведения генетической трансформации стерильных проростков диким штаммом А 4 *Agrobacterium rhizogenes* [Кузовкина и др., 2001]. Введенные в культуру корни, так называемые hairy roots, растут стабильно по настоящее время в питательной среде В 5 без гормонов в колбах в условиях шейкерной культуры и синтезируют набор основных флавонов, характерных для корней многолетних растений шлемника байкальского [Kovacs et al., 2004] (рис. 2).

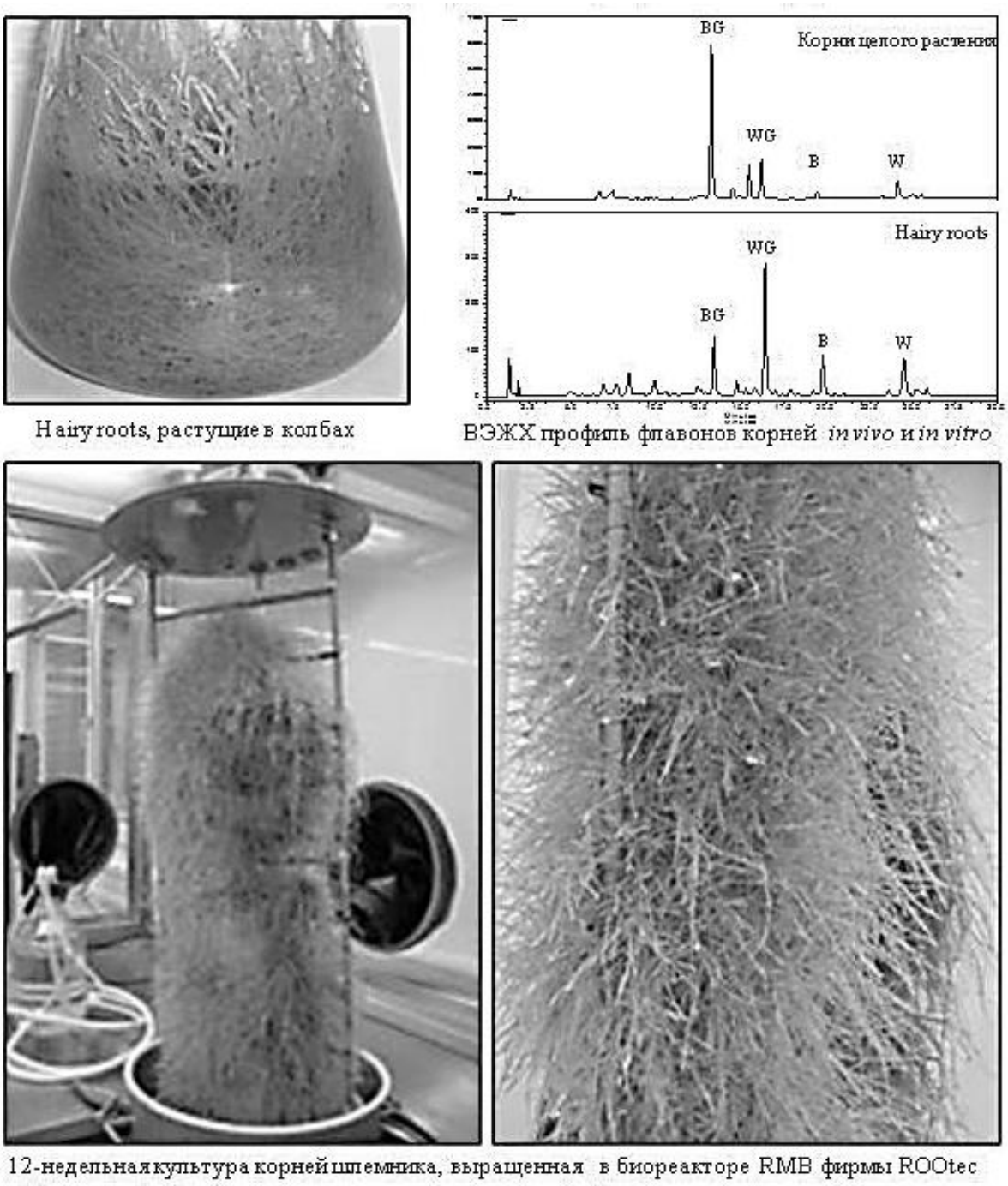


Рис. 2. 6-недельные корни шлемника в колбе и ВЭЖХ профиль флавонов корней шлемника *in vivo* и *in vitro*

Цикл культивирования hairy roots составляет 6 недель, за время одного пассажа масса корней увеличивается в 25–30 раз. Общее содержание 4-х флавонов в hairy roots шлемника составляет 2,5–3% от сухого веса корней, что в 3–5 раз ниже концентрации этих веществ в корнях интактного растения [Кузовкина и др., 2005]. Это обусловлено морфологией hairy roots, которые представляют собой корни с первичным типом роста, т.е. они лишены способности к вторичному утолщению и к накоплению в клетках коровой паренхимы вторичных метаболитов, что характерно для корней многолетнего растения. Однако этот недостаток hairy roots шлемника компенсируют за счет своего круглогодичного интенсивного роста в строго контролируемых условиях. Следует отметить, что концентрация основных флавонов в hairy roots остается практически на одном уровне в течение всего цикла их культивирования, в связи с чем основным фактором, определяющим продуктивность hairy roots шлемника по содержанию в них суммы флавонов, можно считать интенсивность их стабильного роста. Результаты аналитической ВЭЖХ hairy roots шлемника показывают, что общим явлением для них, так же, как и для корней целого растения, является постоянно сохраняющееся преобладание количественного содержания в них глюкуронидов — байкалина (BG) и вогонозида (WG) над концентрацией агликонов — байкалеина (B) и вогонина (W). Одновременно с этим установлено, что в hairy roots в роли основного флавона-глюкуронида выступает не байкалин, как в корнях целого растения, а вогонозид, причем доминирование последнего флавона над байкалином, который считается биохимическим маркером растений шлемника, довольно консервативно, а все попытки изменить количественное соотношение BG/WG оказались безрезультатными [Кузовкина и др., 2012]. Тенденция к доминированию вогонозида в культивируемых корнях шлемника сохраняется при их выращивании не только в колбах, но и в условиях биореактора. Нами было апробировано культивирование hairy roots шлемника в биореакторе с туманным орошением (RMB) швейцарской фирмы ROOTec и доказано, что при одном цикле крупномасштабного выращивания корней можно получить до 2 кг сырой корневой массы, в которой сохраняется доминирование вогонозида над байкалином.

Внешний вид биореактора в конце цикла его трехмесячной работы представлен на рисунке 2. В свете выявления в 2007 г. у вогонина (W) — агликона вогонозда (WG) — селективной цитотоксической активности именно это качество длительно растущего штамма корней шлемника оказалось очень полезным, и в настоящее время оно может стать реальной основой для практического использования hairy roots шлемника с целью получения из них ценного флавона — вогонина. На данный момент острая потребность в вогонине, который необходим для его клинических испытаний, не может быть удовлетворена другими способами, например, использованием корней целых растений, в которых концентрация вогонина не превышает 1%. Осознав этот факт, китайские и корейские фитохимики обратили наконец свое внимание на вогонозид — глюкуронид вогонина, при гидролизе которого можно увеличить выход агликона. Ранее вогонозид считался не столь интересным компонентом фракции флавонов, выделяемых при экстракции из корней шлемника, и ему отводилась своеобразная роль адъютанта байкалина, доминирующего флавона растения.

В последнее время появились публикации, в которых для гидролиза глюкуронидов BG и WG, экстрагируемых из растительного сырья — сухих корней шлемника, начали использовать как кислотный гидролиз, так и их ферментативное расщепление с применением фермента ß-глюкуронидазы, выделенной из молочнокислых бактерий *Lactobacillus brevis,* из бактерий кишечной флоры (*Escherichia coli*), а также из беспозвоночных (виноградной улитки *Helix pomatia*) [Choi et al., 2010;

Dong et al., 2012; Sakurama et al., 2014]. Фермент ß-глюкуронидаза (GUS), который широко распространен и досконально изучен в микроорганизмах и животных, не так хорошо исследован в растениях, ранее предполагалось его отсутствие в них. Именно этим объясняется тот факт, что ген GUS *E.coli*, четко детектируемый гистохимически, успешно используется в течение последних двадцати лет в качестве маркерного гена-репортера при проведении генетической трансформации растений. В настоящее время доказано, что эндогенная GUS встречается все же и в растениях, но экспрессия этого фермента происходит лишь эпизодически и в основном она связана с ростом растительных тканей за счет растяжения клеток [Sudan et al., 2006]. Однако растения рода Scutellaria представляют собой редкое исключение, так как в них постоянно работает конститутивная GUS, называемая более правильно байкалин-β-D-глюкуронидазой. Этот фермент обеспечивает метаболизацию синтезируемых в растениях глюкуронидов в флавоны-агликоны, действуя наиболее быстро в случае стрессовых ситуаций [Hirunuma et al., 2011].

Для выявления присутствия в живых, растущих корнях шлемника эндогенной GUS нами было проведено гистохимическое исследование распределения фермента в культивируемых hairy roots по методу Джефферсона с применением в качестве субстрата красителя Х-глюк [Jefferson et al., 1987]. Результаты работы четко показали, что GUS локализована в культивируемых корнях шлемника в меристематических клетках корневых апексов, в монослое ризодермальных клеток и в корневых волосках, что создает видимость окрашивания всей массы корней [Кузовкина и др., 2012]. Если принимать во внимание морфологические особенности hairy roots — многочисленность корневых окончаний (до 200 апексов в одном корневом экспланте) и ту большую площадь, которую составляет в итоге ризодермальный слой ветвящихся корней, то создается впечатление, будто GUS, локализованная в поверхностном слое культивируемых *in vitro* корней шлемника, находится в состоянии постоянной готовности к ответной реакции на любое стрессовое воздействие. В связи с тем, что данные о пространственном распределении GUS в свежих корнях интактного растения шлемника отсутствуют, о локализации в них фермента можно судить по результатам количественного анализа распределения флавонов-агликонов в корневых тканях, где они были обнаружены преимущественно в перидерме корней [Tani et al., 1985].

Таким образом, локализация GUS в пограничном слое как корней интактных растений, так и hairy roots шлемника может обеспечить быструю реакцию фермента на любое стрессовое воздействие, которое в итоге приведет к естественному гидролизу флавонов-глюкуронидов и к резкому увеличению в них концентрации вогонина. Подобного рода манипуляции можно проводить только с живыми корнями растений шлемника, какими и являются имеющиеся у нас hairy roots. В качестве эффективно действующего стрессового фактора нами был выбран анабиоз культивируемых корней, который возникает при переводе hairy roots из состояния их постоянного качания, необходимого для аэрации корней, в кратковременную статику. В результате было показано, что при пятичасовом статическом состоянии колб с корнями в них практически все количество глюкуронидов гидролизуется с участием активированной гипоксией эндогенной GUS до агликонов B и W (рис. 3). При этом концентрация вогонина в hairy roots увеличивается до 2,2% (на вес сухих корней (табл.). Такой способ гидролиза глюкуронидов корней шлемника не только прост, но и экологичен, так как он не требует введения в питательную среду токсичных для корней химических соединений, вызывающих активацию в них эндогенной GUS. Конечно, крупномасштабное (large scale) культивирование hairy roots в биореакторе, аналогичном швейцарской модели RMB, может обеспечить получе-

ние гораздо большей массы корней с целью выделения из них нужного количества вогонина, чем выращивание корней в колбах. Одновременно с этим существенно упрощается и способ создания анаэробиоза — его можно реализовать путем отключения подачи кислорода массе корней, находящихся в стадии стационарного роста в биореакторе.

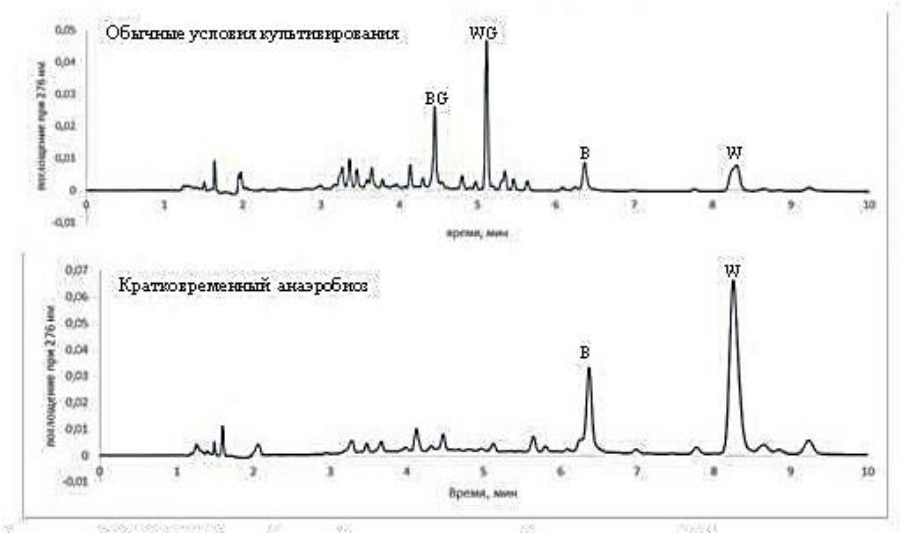


Рис. 3. ВЭЖХ профиль флавонов hairy roots шлемника при обычном культивировании и после их 5-часовой гипоксии

Влияние кратковременного анаэробиоза культивируемых корней шлемника байкальского на изменение содержания в них вогонина и байкалеина, мг/г сухого веса

Условия культивирования корней	BG	WG	B	W	Сумма флавонов
Постоянное качание колб с корнями (контроль)	5,46	8,56	2,49	4,98	23,05
5-часовая статика колб с корнями (анаэробиоз)	0,89	0,49	7,11	22,25	30,59

Примечание: GUS — ß-глюкуронидаза; B — байкалеин; W — вогонин; BG — байкалин; WG — вогонозид; X-глюк — 5-бром-4-хлор-3-индолилглюкуронид.

Предлагаемый нами комплекс биотехнологического приема получения экологически чистого альтернативного лекарственного сырья шлемника в сочетании с последующей биоконверсией синтезированных в корнях флавонов-глюкуронидов за счет активации в них эндогенной GUS в состоянии обеспечить получение вогонина в количестве, достаточном для проведения его доклинического и клинического тестирования.

Исследования с привлечением генетически трансформированных корней растений рода Scutelleria в качестве потенциальных объектов для получения из них ценных флавонов проводятся в настоящее время в институтах таких стран, как США, Южная Корея. Китай, Польша [Wilczańska-Barska et al., 2012; Marsh et al.,

2014]. Однако анализ опубликованных результатов показывает отсутствие пока штаммов hairy roots, сопоставимых по длительности стабильного роста в условиях *in vitro*, а также по своей физиолого-биохимической характеристике с данными штамма корней шлемника байкальского, имеющегося в ИФР РАН. Таким образом, интенсивно растущий и стабильно синтезирующий флавоны штамм корней шлемника байкальского, в котором к тому же доминирует вогонозид, является реальным претендентом на крупномасштабное культивирование hairy roots с целью получения цитотоксического флавона вогонина с таргетным принципом действия. Единственный фактор, который лимитирует реализацию предлагаемого комплексного способа, — это отсутствие ферментера отечественного производства для выращивания корней.

Библиографический список

Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Литвиненко В.И., Попова Т.П., Суслов Н.И. Шлемник байкальский: фитохимия и фармакологические свойства. Томск, 1994. 223 с.

Дыгай А.М., Суслов Н.И., Зюзьков Г.Н., Кузовкина И.Н., Жданов В.В., Удут Е.В., Гусева А.В., Вдовитченко М.Ю., Шилова И.В., Смирнов В.Ю., Чурин А.А., Воронова О.Л., Симанина Е.В., Неупокоева О.В., Федорова Е.П. Средство, обладающее антимутагенным, гемостимулирующим, противоопухолевым, церебропротекторным, ноотропным, антигипоксическим, анксиолитическим и противоневротическим действием. Патент РФ №2438691 09.11.2010.

Кузовкина И.Н., Гусева А.В., Альтерман И.Е., Карначук Р.А. Образование флавоноидов в трансформированных корнях *Scutellaria baicalensis* и пути их регуляции // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 523–528.

Кузовкина И.Н., Гусева А.В., Ковач Г., Сёке Е., Вдовитченко М.Ю. Флавоны генетически трансформированных корней шлемника байкальского и индукция их образования при элиситации метилжасмонатом // Физиология растений. 2005. Т. 52. С. 90–96.

Кузовкина И.Н., Гусева А.В., Прокофьева М.Ю. Перспективы использования культивируемых *in vitro* корней шлемника байкальского как источника селективного цитотоксического флавона // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты : материалы докладов VIII Междун. симпозиума, Москва, 2–5 октября 2012 г. М., 2012. С. 353–359.

Choi R.J., Ha I.J., Choi J.S., Park Y., Kim Y.S. Biotransformation of flavonoid-7-O-glucuronides by ß-glucuronidases // Natural Product Sciences. 2010. V. 16. P. 1–5.

Dong L.L., Fu Y.J., Zu Y.G., Luo M., Wang W., Li X.J., Li J. Application of cavitation system to accelerate the endogenous enzymatic hydrolysis of baicalin and wogonoside in Radix Scutellariae // Food Chemistry. 2012. V. 131. P. 1422–1429.

Gaire B.R., Moon S.K., Kim H. Scutellaria baicalensis in stroke management: nature's blessing in traditional eastern medicine // Chin. J. Integr. Med. 2014. V. 20. P. 712–720.

Himeji M., Ohtsuki T., Fukazawa H., Tanaka M., Yazaki S, Ui S., Nishio K., Yamamoto H., Tasaka K., Mimura A. Difference of growth-inhibitory effect of Scutellaria baicalensis producing flavonoid wogonin among human cancer cells and normal diploid cell // Cancer Letters. 2007. V. 245. P. 269–274.

Hirunuma M., Shoyama Y., Sasaki K., Sakamoto S., Taura F., Shoyama Y., Tanaka H., Morimoto S. Flavone-catalyzed apoptosis in *Scutellaria baicalensis* // Phytochemistry. 2011. V. 72. P. 752–760.

Jefferson R.A., Kavanagh T.A., Bevan M.W. GUS fusions: ß-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants // EMBO J. 1987. V. 6. P. 3901–3907.

Kimura Y., Sumiyoshi M. Anti-Tumor and metastatic actions of wogonin isolated from Scutellaria baicalensis roots through antilymphangiogenesis // Phytomedicine. 2011. V. 20. P. 328–336.

Kovacs G., Kuzovkina I., Szöke E., Kursinszki L. Determination of flavonoids in hairy root cultures of Scutellaria baicalensis Georgi // Chromatographia. 2004. V. 60. P. 81–85.

Li-Weber M. Targeting apoptosis pathways in cancer by Chinese medicine // Cancer Letters. 2013. V. 332. P. 304–312.

Lin C.M., Chen Y.H., Ong J.R., Ma H.P., Shyu K.G., Bai K.J. Functional role of wogonin in anti-angiogenesis // Am. J. Chin. Med. 2012. V. 40. P. 415–427.

Patel P.S., Joshee N., Rimando A.M., Parajuli P. Anti-cancer scopes and associated mechanisms of Scutellaria extract and flavonoid wogonin // Current Cancer Therapy Reviews. 2013. V. 9. P. 34–42.

Polier G., Giaisi M., Koehler R., Mueller W.W., Lutz Ch., Buss E.B., Krammer P.H., Li-Weber M. Targeting CDK9 by wogonin and related natural flavones potentiates the anti-cancer efficacy of the Bcl-2 family inhibitor ABT-263 // Int. J. Cancer. 2015. V. 136. P. 688–698.

Sakurama H., Kishino S., Uchibori Y., Yonejima Y., Ashida H., Kita K., Takahashi S., Ogawa J. β-Glucuronidase from Lactobacillus brevis useful for baicalin hydrolysis belongs to glycoside hydrolase family 30 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014. V. 98. P. 4021–4032.

Wilczańska-Barska A., Królicka A., Głód D., Majdan M., Kawiak A., Krauze-Baranowska M. Enhanced accumulation of secondary metabolites in hairy root cultures of Scutellaria lateriflora following elicitation // Biotechnol Lett. 2012. V. 34. P. 1757–1763.

УДК 615.281

Л.Р. Лебедев, Ю.С. Аликин, Е.Д. Даниленко, Ю.В. Телегина, Б.Н. Зайцев

Институт медицинской биотехнологии Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Бердск, Россия)

ИННОВАЦИОННЫЕ ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Разработана модель противовирусных препаратов в виде частиц, содержащих в центре молекулу индуктора интерферона — двуспиральную РНК, а на поверхности — специфические противовирусные средства (апротинин, осельтамивир, амантадин). Частицы имеют размеры 40–60 нм. Установлено, что дсРНК в составе частиц более устойчива к действию деградирующих факторов сыворотки крови, что позволяет предполагать возможность пролонгированного терапевтического эффекта.

Ключевые слова: индуктор интерферона, дсРНК, противовирусные препараты.

L.R. Lebedev, Yu.S. Alikin, E.D. Danilenko, Yu.V. Telegina, B.N. Zaitcev

Institute of medical biotechnology State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» (Berdsk, Russia)

INNOVATION ANTIVIRAL PREPARATIONS

A model of the antiviral preparations in the form of particles, which contain in the center a molecule of an interferon inducer — double-stranded RNA, and on the surface — specific antivirals (aprotinin, oseltamivir, amantadine) has been developed. The particles have sizes of 40–60 nm. It has been established that dsRNA within these particles is more resistant to the action of the degrading factors of blood serum, which suggests the possibility of a prolonged therapeutic effect.

Key words: interferon inducer, dsRNA, antiviral preparations.

В настоящее время известно более 1500 вирусов, способных поражать клетки человека, приводя к различным заболеваниям, включая грипп, гепатиты, геморрагические лихорадки и др. Последствием заболеваний являются значительные экономические потери. Следовательно, развитие направления исследований, касающихся создания новых противовирусных препаратов, является актуальной необходимостью. Традиционные подходы к созданию противовирусных препаратов основаны на поиске соединений, обладающих способностью специфически ингибиро-

вать процессы вирусной репродукции. При этом известно, что вирусы как мобильные генетические паразиты способны к быстрым мутационным изменениям, позволяющим легко выходить из-под контроля таких препаратов.

Целью работы являлось проектирование и получение противовирусных препаратов в виде молекулярных конструкций, сочетающих в себе свойства иммуномодулятора неспецифического действия и вирус-ингибирующую активность биологически активных веществ различного строения и специфичности.

Теоретическая модель молекулярной конструкции, лежащей в основе разрабатываемых противовирусных препаратов, представлена на рисунке 1. Конструкция представляет собой частицу, содержащую в центральной части индуктор интерферона — двуспиральную РНК (дсРНК), покрытую оболочкой из молекул конъюгата (полианион, содержащий в своем составе этиотропные агенты).

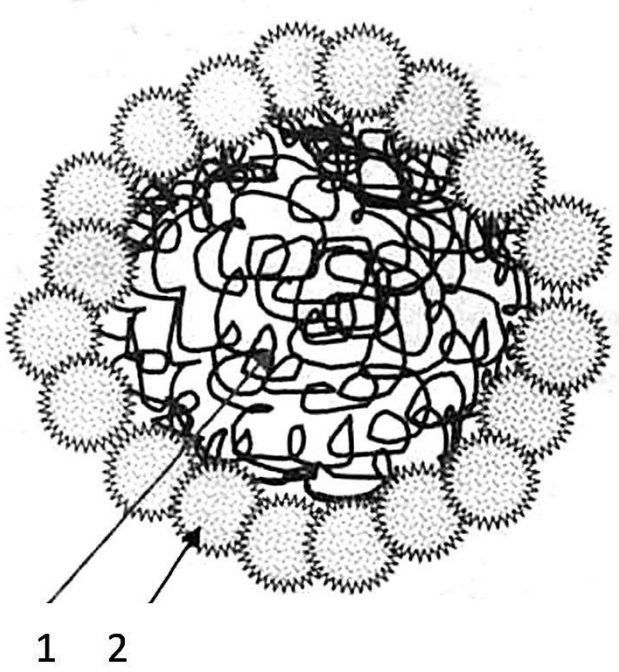


Рис. 1. Схема молекулярной конструкции:
1) двуспиральная РНК — иммуномодулятор и индуктор интерфероногенеза;
2) этиотропный агент в конъюгате с анионодекстраном

Выбор дсРНК в качестве центрального ядра частиц обусловлен тем, что оптимальный клинический эффект при лечении вирусных заболеваний может быть получен при сочетанном применении этиотропных средств и препаратов интерферона либо индуктора интерферонов [Ершов и др., 2005]. В данной работе в качестве индуктора интерфероногенеза была использована дсРНК из киллерного штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [Лебедев и др., 2014].

В качестве этиотропных агентов использовали:

- ингибитор протеаз — апротинин, для которого показано, что при его ингаляционном введении в дозах 300–600 КИЕ/сут. наблюдался терапевтический эффект при лечении ОРВИ;
- ингибитор нейраминидазы — осельтамивир (тамифлю);
- амантадин (используется для химиопрофилактики и лечения гриппа, вызванного вирусом гриппа А).

Для оболочки частиц и матрицы, несущей вирус-ингибирующие агенты, был выбран декстран. Декстран легко биодеградирует в организме, а его препараты

с молекулярной массой 40000–60000 Да (полиглюкин, реополиглюкин) разрешены к применению в медицинской практике. Для ионной связи отрицательно заряженных молекул дсРНК с конъюгатами, полученными на основе декстрана, в состав последнего вводили положительно заряженные молекулы спермидина.

Были подобраны режимы синтеза конъюгатов декстрана с этиотропными агентами и соотношения компонентов, вводимых в молекулярные конструкции.

Для активации декстрана использовали реакцию окисления его периодатом натрия, внося на одну молекулу полимера 50 молекул окислителя. Активированный декстран отделяли гель-фильтрацией, и к нему последовательно добавляли один из этиотропных агентов (апротинин, осельтамивир либо амантадин), затем — спермидин. Полноту вхождения компонентов в молекулы конъюгата после инкубации контролировали методами электрофореза и хроматографии. Синтезированные конъюгаты отделяли гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-25.

Полученные конъюгаты использовали для создания оболочек для молекул дсРНК, добавляя до 100 молекул конъюгата на одну молекулу дсРНК.

На электронно-микроскопических фотографиях видно, что образующиеся частицы с различными этиотропными агентами в составе оболочки имеют размеры от 40 до 60 нм и форму от шарообразной (с апротинином) до неправильной (с озельтамивиром) (рис. 2).

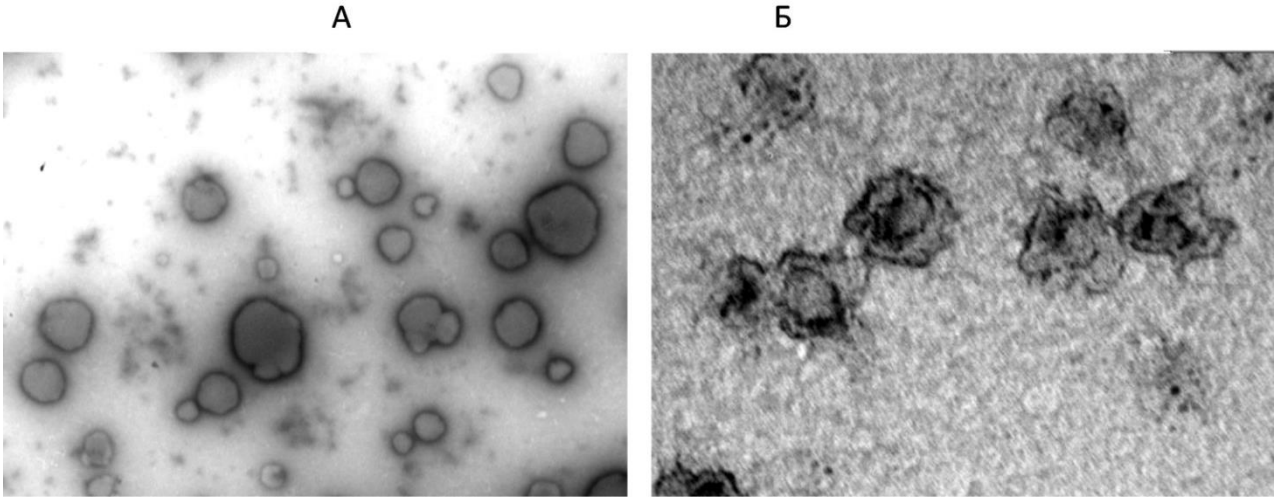


Рис. 2. Электронные фотографии частиц на основе дсРНК и конъюгатов:
А — декстран-апротинин-спермидин; Б — декстран-осельтамивир-спермидин

При определении размеров частиц препараты визуализировали методом просвечивающей электронной микроскопии (JEM 1400, Jeol) с использованием метода негативного контрастирования (1% водный раствор уранилацетата). Образцы исследовали при ускоряющем напряжении 80 кВ. Анализ электронных снимков (определение размеров частиц) осуществляли при помощи программного пакета iTEM (Olympus, Германия).

В сравнительных экспериментах было установлено, что дсРНК в составе частиц более устойчива к действию деградирующих факторов сыворотки крови. На электрофореграмме (рис. 3) видно, что если исходная дсРНК (2 мкг) разрушается под действием 0,1 мкг сыворотки практически полностью после инкубации 20 мин, то дсРНК в конструкциях с конъюгатами сохраняется и после инкубации с 0,5 мкл сыворотки. На основании этого можно предположить, что молекулярные конструкции, содержащие РНК, будут более длительно циркулировать в организме и, соответственно, обеспечивать пролонгированный комплексный терапевтический эффект.

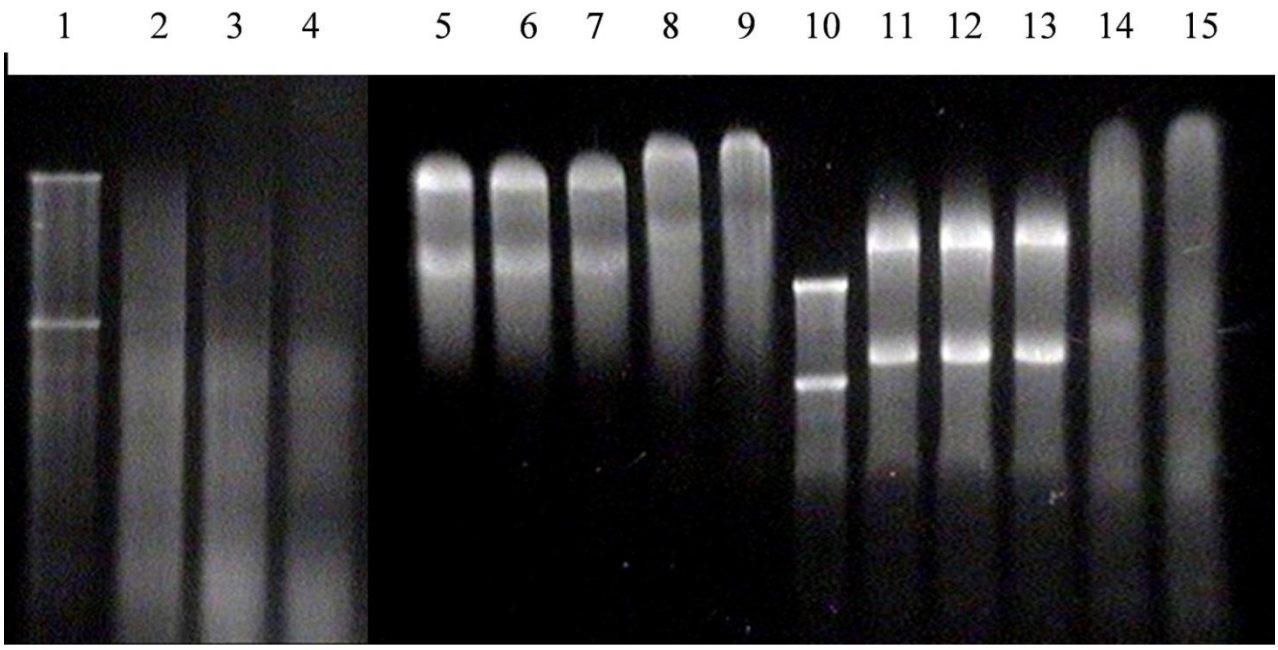


Рис. 3. Сравнительная стабильность молекул РНК в сыворотке крови. Электрфорез в 1% геле агарозы, окрашивание этидиум бромидом. Электрофореграмма образцов, обработанных сывороткой мыши, в течение 20 мин при 37 °С, дорожки:
1 и 10 — препарат исходной дсРНК; 2–4 — дсРНК после инкубации с сывороткой: 0,1; 0,2 и 0,5 мкл соответственно; 5 — препарат дсРНК с конъюгатом декстран-амантадин-спермидин; 6–9 — после инкубации с сывороткой: 0,1; 0,2; 0,5 и 1 мкл соответственно; 11 — препарат дсРНК с конъюгатом декстран-апротинин-спермидин; 12–15 — после инкубации с сывороткой: 0,1; 0,2; 0,5 и 1 мкл соответственно

Таким образом, разработана модель молекулярной конструкции противовирусных препаратов комплексного действия, содержащих в центре молекулу индуктора интерферона — дсРНК, покрытую оболочкой из конъюгатов специфических противовирусных агентов с полианионом (конъюгат декстрана с положительно заряженными молекулами спермидина). На ее основе создан ряд комплексных противовирусных препаратов. Установлено, что дсРНК в конструкциях более устойчива к действию деградирующих факторов сыворотки крови, что позволяет предполагать возможность пролонгированного терапевтического эффекта.

Библиографический список

Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы. М., 2005. 356 с.

Лебедев Л.Р., Аликин Ю.С., Рослякова Е.Ю., Подгорный В.Ф., Дубинкина О.С., Азаев М.Ш. Выделение и очистка двуспиральной рибонуклеиновой кислоты из киллерного штамма дрожжей Saccharomyces cerevisiae» // Биофармацевтический журнал. 2014. Т. 6, №6. С. 37–43.

УДК 571.27:579.63

А.В. Маерле[1], Е.Э. Петрова[2], Р.Л. Комалева[2], К.Л. Доброчаева[2], О.Е. Галанина[2], Д.Ю. Трофимов[1], Н.В. Бовин[2], С.К. Завриев[2], Д.Ю. Рязанцев[2]

[1]ЗАО «НПФ ДНК-Технология» (Москва, Россия)

[2]Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Москва, Россия)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ДНК-СТРЕПТАВИДИН В ИММУНО-ПЦР*

Применение методов иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР) трудно переоценить. Способность специфичной детекции антигенов методом ИФА и чувствительность метода ПЦР были объединены в методе, получившим название иммуно-ПЦР. В нашей работе мы разработали надмолекулярные комплексы бисбиотинилированных олигодезоксинуклеотидов со стрептавидином, которые были использованы в качестве ДНК-метки в иммуно-ПЦР. Исследования специфичности разработанных тест-систем показали отсутствие перекрестных реакций при определении токсинов SEA и TSST. Чувствительность определения этих токсинов в супернатантах культур *S. aureus* составила не менее 10 пг/мл. Данные надмолекулярные комплексы были применены для обнаружения анти-Le^C естественных антител в сыворотке крови человека. Было показано десятикратное увеличение чувствительности по сравнению с ИФА.

Ключевые слова: иммуно-ПЦР, суперантигены, естественные антитела, надмолекулярные комплексы.

A.V. Maerle[1], E.E. Petrova[2], R.L. Komaleva[2], K.L. Dobrochaeva[2], O.E. Galanina[2], D.Yu. Trofimov[1], N.V. Bovin[2], S.K. Zavriev[2], D. Yu. Ryazantsev[2]

[1]JSC "NPF DNK-Tekhnologiya" (Moscow, Russia)

[2]Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

APPLICATION OF THE DNA-STREPTAVIDIN SUPRAMOLECULAR COMLEXES IN THE IMMUNO-PCR

Application of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) and polymerase chain reaction (PCR) could hardly be overestimated. Specificity of ELISA and sensitivity of PCR were combined in method, termed immuno-PCR. In our work we developed supramolecular complexes of bisbiotinylated oligodeoxynucleotides and streptavidin, which were to be used as DNAtags. Specificity studies showed no crossreactivity when determining *S. aureus* superantigens SEA and TSST. The sensitivity of detection of these toxins in the culture supernatants *S. aureus* was not lower than 10 pg/mL. This supramolecular complexes were applied for detection of anti-LeC natural antibodies in human serum and it was shown 10 times higher sensitivity than ELISA tests.

Key words: immuno-PCR, superantigens, natural antibodies, supramolecular complexes.

Метод иммуно-ПЦР (иПЦР) [Sano et al., 1992, p. 120–122] представляет собой альтернативу ставшему уже классическим иммуноферментному анализу. Метод базируется на тех же принципах, что и ИФА, а именно высокоспецифичном взаимодействии антиген-антитело и возможности введения в один из компонентов реакции «метки» с последующей ее детекцией. На этих принципах были разработаны

* Работа выполнена при финансовой поддержке стипендии Президента РФ СП-4413.2015.4.

методы радиоиммунного (радиоактивная метка, чаще всего ^{125}I) и иммунофлуоресцентного анализа, ИФА, иммуно-ПЦР и др. В качестве метки в иПЦР используется фрагмент ДНК (ДНК-метка), чаще всего связанный с антителом, далее наличие ДНК-метки в составе иммунного комплекса детектируется методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), что существенно повышает чувствительность метода, которая, главным образом, определяется аффинностью используемых антител и может достигать уровня десятков фг/мл антигена (10^{-15}г).

Метод иПЦР дает большой выбор таких параметров для оптимизации, как твердая фаза для фиксации иммунного комплекса (полистирольные, поликарбонатные планшеты и стрипы, магнитные частицы), способ связывания ДНК-метки с детектирующим антителом (ковалентные конъюгаты, биотин-стрептавидиновые конъюгаты), метод детекции ДНК-метки (гель-электрофорез, «по конечной точке» и «в режиме реального времени») [Malou et al., 2011, p. 295–302].

Одним из ключевых этапов оптимизации метода иммуно-ПЦР является выбор модели конъюгации ДНК-маркера и антител (рис. 1).

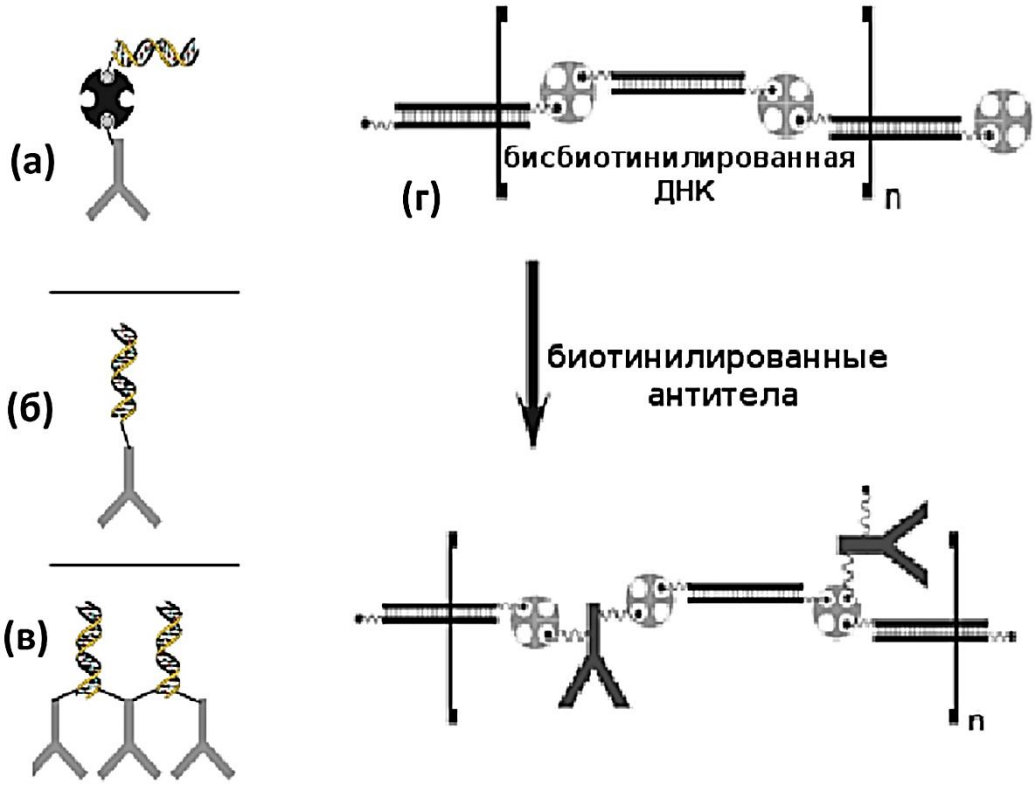


Рис. 1. Типы конъюгатов ДНК — антитело:
а) биотин-стрептавидиновый конъюгат, необходимо три стадии сборки с промывками (антитело — стрептавидин — ДНК); б) ковалентный конъюгат, 1-я стадия; в) мультимерные комплексы, 1-я стадия; г) надмолекулярные ДНК-стрептавидиновые комплексы, две стадии сборки (антитело — комплекс)

Мы использовали надмолекулярные комплексы, формируемые из фрагментов ДНК, биотинилированных с 5'- и 3'-концов, и стрептавидина [Niemeyer et al., 1999, p. 4553–4561]. Их использование позволяет усилить специфический сигнал за счет того, что на одну молекулу детектирующего антитела приходятся десятки молекул маркерной ДНК. Для приготовления комплексов использовали биотинилированную по обеим концам двухцепочечную ДНК длиной 750, 300 и 150 п.н., полученный методом ПЦР с биотинилированными по 5' концам праймерами, а также одноцепо-

чечную ДНК длиной 60 нуклеотидов (ОН), полученную прямым синтезом. Показано, что комплексы образуются быстро (менее 1–2 сек) и являются стабильными, при этом по большей части используется две «валентности» молекулы стрептавидина. Размер образуемых трехмерных комплексов зависит от молярного отношения стрептавидина и ДНК, используемых при их образовании. При соотношении 1 : 1 образуются наиболее протяженные комплексы с электрофоретической подвижностью соответствующие ДНК размером 1500–50000 п.н., при соотношении стрептавидин : ДНК 4 : 1 образуются олигомерные комплексы с электрофоретической подвижностью, кратной таковой используемой ДНК (2х–8х). При применении для образования комплексов одноцепочечной ДНК длиной 60 нт. при любом соотношении стрептавидин : ДНК образуются комплексы с электрофоретической подвижностью, эквивалентной ~300–600 п.н. На основе полученных экспериментальных данных в качестве оптимальных были выбраны комплексы с соотношением стрептавидин : ДНК 1 : 1 и размером ДНК 750 п.н. и 60 нт. (рис. 2). Для введения 3’ биотина в ОН была использована соответствующая твердая фаза для синтеза: 3'-Protected Biotin Serinol CPG (Glen Research, США). 5’ биотин был введен с помощью фосфоамидита Protected Biotin Serinol Phosphoramidite (Glen Research, США).

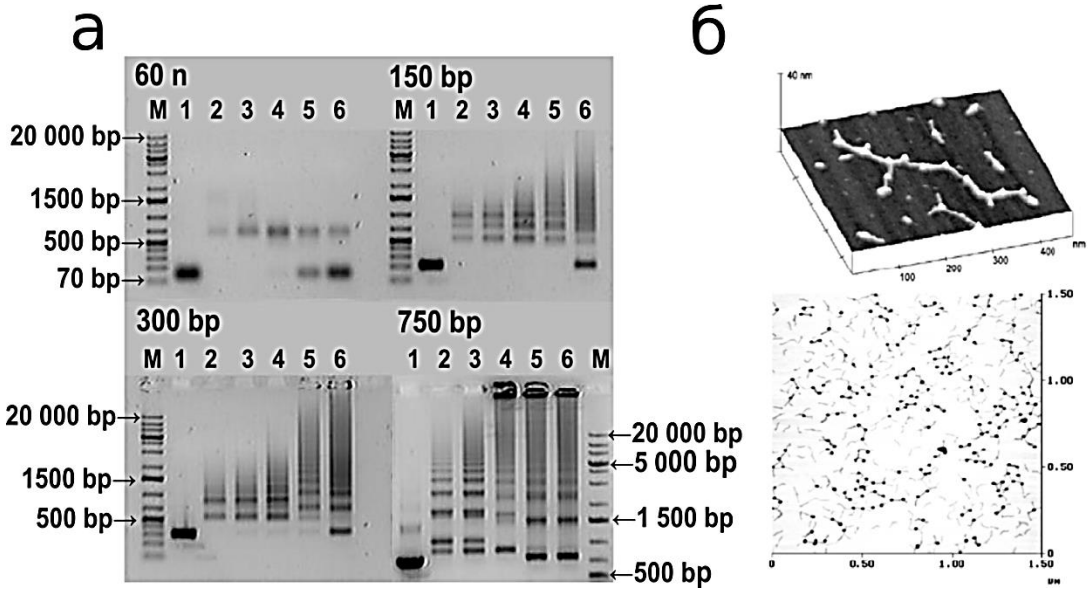


Рис. 2. (а) Визуализация образующихся надмолекулярных комплексов с помощью гель-электрофореза. Соотношение молекул стрептавидин/ДНК: 1 — исх. фрагмент ДНК, 2 — 4/1, 3 — 2/1, 4 — 1/1, 5 — 1/2, 6 — 1/4. Детектируются надмолекулярные комплексы с различной электрофоретической подвижностью; (б) атомно-силовая микроскопия комплексов 1/1 (по: [Niemeyer et al., 1999, p. 4559, figure 4])

На рисунке 2, *а* показана электрофореграмма комплексов, полученных при смешивании растворов кандидатных ОН с раствором стрептавидина в солевом буфере TBS (20 мМ Tris-HCl, 150 мМ NaCl, pH 7.5). Для дальнейших работ был выбран олигонуклеотид ОН-60b ввиду отличной воспроизводимости получения комплексов (оценка сделана на основе электрофореграмм и работе в модельных реакциях иПЦР), однородности и более технологичному методу получения [Ryazantsev et al., 2012, p. 1–6]. Эта система является универсальной, так как при ее использовании нет необходимости создавать специфичные конъюгаты для каждого вида антител и ДНК-метки. На рисунке 2, *б* представлена атомно-силовая микроскопия комплексов 1/1 по Niemeyer et al., по результатам которой авторы констатируют образова-

ние протяженных комплексов, где 65% молекул стрептавидина используют две валентности, 20–30% — одну и 4–10% — три валентности [Niemeyer et al., 1999, p. 4553–4561].

Детекция антигенов методом иПЦР. Первые наши объекты для разработки тест-систем на основе иммуно-ПЦР были выбраны среди суперантигенов, продуцируемых *Staphylococcus aureus* [Maerle et al., 2014, p. 571–577], а именно: токсин синдрома токсического шока (TSST) и стафилококковый энтеротоксин А (SEA). Суперантигены играют важную этиопатогенетическую роль в развитии целого ряда различных тяжелых патологических состояний человека, таких как менструальный и неменструальный синдромы токсического шока, стафилококковая пневмония и эндокардит. Большинство тяжелых случаев развития синдрома токсического шока обусловлено суперантигенными свойствами TSST, SEB и SEC. В свою очередь, SEA служит главной причиной возникновения стафилококковых пищевых отравлений [Holmberg et al., 1984, p. 487–489].

ИПЦР в данном случае был реализован в сэндвич-формате. Подбор первичных (связывающих) и вторичных (детектирующих) антител производился на основе данных ИФА. Выбор конкретных параметров иПЦР, таких как концентрация связывающих антител, блокирующий агент и время его экспозиции, концентрация вторичных антител и надмолекулярных комплексов, производился по результатам постановки полного протокола иммуно-ПЦР (финальная версия приведена далее в тексте) и основывался на возможности детектирования минимальной концентрации выделенных и очищенных антигенов TSST и SEA в буферном растворе.

Протокол проведения иПЦР. Базовый протокол основан на работе Niemeyer [Niemeyer et al., 2007, p. 1918–1930]. Для иммобилизации связывающих антител на планшете Greiner polycarbonate PCR plate в лунку вносили 20 мкг/мл антител в 40 мкл калий-фосфатного буферного раствора PBS (137 мМ NaCl, 10 мМ Na_2HPO_4, 1.76 мМ KH_2PO_4, pH 7.4), инкубировали при 4 °С в течение 12 ч с последующей трехкратной промывкой солевым трис-буфером TBS (20 мМ Tris-HCl, 150 мМ NaCl, pH 7.5). Блокировку оставшихся сайтов сорбции проводили раствором BTBS (1% BSA в TBS) по 150 мкл/лунку, в течение 2 ч при комнатной температуре. Затем промывали трижды буферным раствором TETBS (0.1 мМ ЭДТА и 0.1% Tween 20 в TBS — стандартная промывка). Инкубацию с 40 мкл раствора образца токсина в TBS проводили в течение 1 ч при комнатной температуре с последующей стандартной промывкой TETBS. Добавляли по 40 мкл биотинилированных детектирующих антител в TBS в концентрации 0.5 мкг/мл и инкубировали в течение 1 ч с последующей стандартной промывкой. Добавляли раствор комплекса ДНК-стрептавидин в TBS в концентрации 5 рМ по 40 мкл/лунку, инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре, затем промывали 9 раз по 150 мкл TETBS и 3 раза по 150 мкл TBS. Максимально полностью осушали пробирки от остатков буферного раствора. Затем вносили 40 мкл амплификационной смеси для ПЦР «в реальном времени» [Ryazantsev et al., 2012, p. 1–6] и проводили амплификацию и анализ результатов.

ПЦР осуществляли по следующей программе: 94 °С — 5 мин (1 цикл); 94 °С — 5 с, 60°С — 15 с (40 циклов); на детектирующем амплификаторе ДТ-96 (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия), детекция сигнала при 60 °С, канал детекции FAM. Результаты ПЦР анализировали с помощью программы, поставляемой с детектирующим амплификатором, рассчитывая значения пороговых циклов (Ср).

Каждый эксперимент проводили не менее чем в двух повторностях. Результаты анализировали по описанной ранее методике [Ryazantsev et al., 2012, p. 1–6]. Для всех проб из общего числа циклов амплификации вычитали значения порого-

вых циклов, затем по этим величинам рассчитывали средние значения и стандартные отклонения. Рассчитывали граничное значение (ГЗ) по формуле

ГЗ = [среднее(40–Ср) по контролю без антигена) + 3*Стандартное отклонение (40-Ср) по контролю без антигена].

Рассчитывали нормированные значения (ΔCn) по формуле

[ΔCn(i)=(Среднее(40–Ср)i – ГЗ].

Пробы с нормированным значением меньше "0" считали отрицательными, а со значением больше или равным "0" — положительными. Между различными экспериментами сравнивали только нормированные значения.

Определение SEA и TSST в десяти супернатантах культур *S. aureus*, полученных из клинических образцов, выделенных в 2009–2011 гг. от пациентов с пневмонией (аутопсийный материал, мокрота) или бактериемией (кровь), показала 100% специфичность в данной выборке (на основе данных генотипирования культур на наличие генов продуцентов суперантигенов). Чувствительность определения SEA и TSST в супернатанте бактериальной культуры составила до 10 пг/мл [Maerle et al., 2014, p. 571–577].

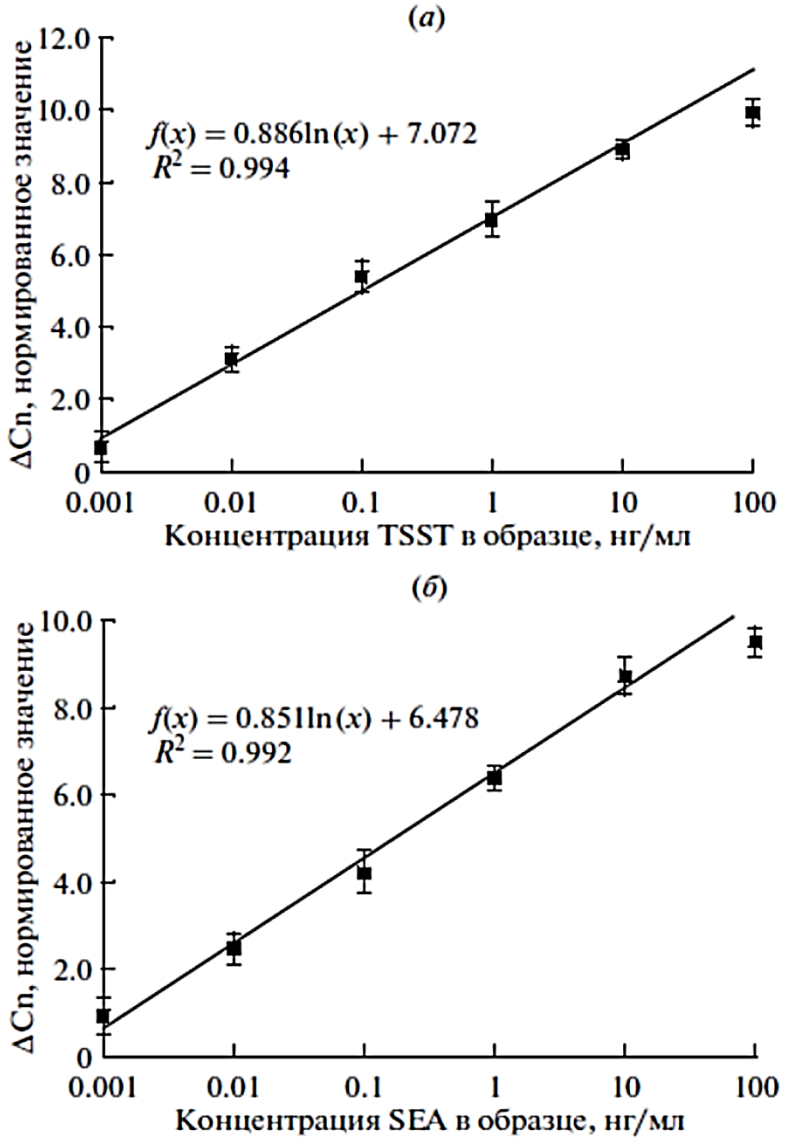


Рис. 3. Калибровочные кривые, полученные при анализе десятикратных разведений очищенных антигенов SEA и TSST в TBS методом иПЦР

На рисунке 3 показаны калибровочные кривые, полученные при анализе десятикратных разведений образцов выделенных очищенных антигенов SEA и TSST в TBS. Линейный диапазон для обеих систем находился в пределах от 1 пг/мл до 10 нг/мл (рис. 3). В модельной системе предел обнаружения SEA составил 100 фг/мл, TSST — 1 пг/мл, что показало в 5000 и 500 раз большую чувствительность по сравнению с ИФА с использованием той же пары антител [Ryazantsev et al., 2012, p. 1–6].

Детекция антител методом иПЦР. В крови как здоровых людей, так и пациентов с онкологическими заболеваниями присутствуют естественные антигликановые антитела. В их репертуаре находятся антитела к дисахариду Le^C, который входит в состав хорошо известного онкомаркера — CA19-9. Специфичные к Le^C моноклональные антитела показали высокую диагностическую ценность при выявлении рака молочной железы [Udalova et al., 2009, p. 45–54]. Содержание специфичных к Le^C антител в сыворотке человека невелико (сотые процента от числа всех антител в сыворотке), и их определение к Le^C методом ИФА вызывает определенные трудности, так как необходимо тестировать сыворотки в небольших разведениях, что приводит к возрастанию фона и маскировке сигнала.

Для перевода имеющейся системы на основе ИФА в формат иммуно-ПЦР мы использовали разработанные нами ранее надмолекулярные комплексы, формируемые из одноцепочечных фрагментов ДНК размером 60 н., биотинилированных с 5' и 3' концов, и стрептавидина. Уровень детекции Le^C в прямом варианте анализа с использованием биотинилированных анти-Le^C антител в модельной системе составил 0,1 нг/мл. В экспериментах по определению уровня антител к Le^C в сыворотках здоровых людей, детекция иммунного комплекса проводилась с использованием биотинилированных антител против иммуноглобулинов человека. На подложке иммобилизировали свободный полимер и полимер, несущий дисахарид Le^C, проводили блокировку, последовательно инкубировали с сыворотками, биотинилированными анти-IgM антителами и комплексом стрептавидин-ДНК, проводили ПЦР «в реальном времени». Учитывали разницу между Ср в образцах с подложкой из чистого полимера и подложкой из полимера с Le^C. В данных экспериментах предел обнаружения IgM к Le^C составил 2 нг/мл, что более чем на порядок превышало чувствительность ИФА (рис. 4).

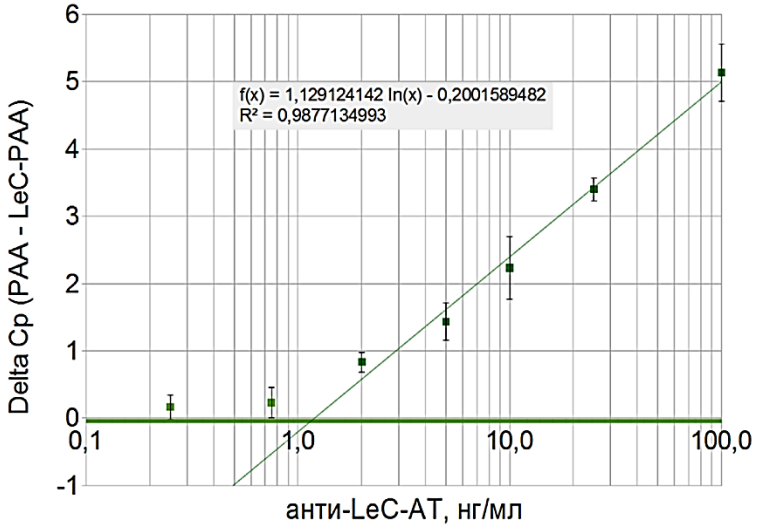


Рис. 4. Зависимость DeltaCp (разница между Ср в образцах с подложкой из чистого полимера и подложкой из полимера с Le^C) и концентрации антител к Le^C, которые вносились в разведенную (1 : 500) обедненную сыворотку. Здесь фон (горизонтальная линия) — DeltaCp для обедненной сыворотки + 3*SD

Разработанные надмолекулярные комплексы позволяют повысить чувствительность детекции по сравнению с ИФА-системами, в которых используются биотин-стрептавидиновые конъюгаты с ферментом. Однако требуется детальная проработка переноса метода на платформу иммуно-ПЦР, что связано с высокой чувствительностью метода и соответственно большему влиянию правильного подбора блокирующих агентов, времени отмывок, концентраций рабочих растворов и связывающих антител (антигенов). Естественным ограничением для разработки тест-систем на основе надмолекулярных комплексов является отсутствие возможности одновременного определения нескольких антигенов с использованием соответствующих детектирующих моноклональных антител, что возможно только при использовании ковалентных конъюгатов антител, получаемых для каждого антитела отдельно с новым олигонуклеотидом (меткой). Также следует отметить, что при работе с надмолекулярными комплексами велик риск контаминации рабочей зоны фрагментами ДНК, используемыми при приготовлении этих комплексов.

Библиографический список

Holmberg S., Blake P. Staphylococcal food poisoning in the United States. New facts and old misconceptions // J. Am. Med. Ass. 1984. V. 251. P. 487–489.

Maerle A.V., Ryazantsev D.Yu., Dmitrenko O.A., Petrova E.E., Komaleva R.L., Sergeev I.V., Trofimov D.Yu., Zavriev S.K. Detection of *Staphylococcus aureus to*xins using immuno -PCR // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2014. V. 40, №5. P. 571–577.

Malou N., Raoult D. Immuno-PCR: a promising ultrasensitive diagnostic method to detect antigens and antibodies // Trends Microbiol. 2011. V. 19. P. 295–302.

Niemeyer C. M., Adler M., Pignataro B., Lenhert S., Gao S., Lifeng C., Fuchs H., Dietmar B. Self-assembly of DNA–streptavidin nanostructures and their use as reagents in immuno-PCR // Nucleic Acids Res. 1999. V. 27 (23). P. 4553–4561.

Niemeyer C.M., Adler M., Wacker R. Detecting antigens by quantitative immuno-PCR // Nat. Protoc. 2007. V. 2. P. 1918–1930.

Ryazantsev D.Yu., Petrova E. E., Kalinina N.A., Valyakina T.I., Grishin E.V., Zavriev S.K. Application of supramolecular DNA-streptavidin complexes for ultrasensitive detection of several toxins by immuno-PCR // Global J. Anal. Chem. 2012. Vol. 3. P. 17 [Electronic resource]. URL: http://www.cognizure.com/abs/101637284.aspx.

Sano T., Smith C.L., Cantor C.R. Immuno-PCR: very sensitive antigen detection by means of specific antibody-DNA conjugates // Science. 1992. V. 258, №5079. P. 120–122.

Udalova Y.A., Tupitsyn N.N., Bovin N.V., Kadagidze Z.G., Galanina O.E., Borovkova N.V., Podolsky V.V., Shinkarev S.A, Gadetskaya N.A., Letyagin V.P., Subbotina A.A. Tumor assotiated glycan Lewis C in breast cancer // Haematopoiesis Immunology. 2009. V. 6, №2. P. 45–54.

УДК 533.92:537.525

А.К. Мартусевич[1,2], А.Г. Соловьева[1], А.В. Давыдюк[2]

[1]Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр (Нижний Новгород, Россия)

[2]Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия (Нижний Новгород, Россия)

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ДЕПОНИРОВАННЫЕ ФОРМЫ NO В КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Цель исследования — изучение динамики окислительного и энергетического метаболизма и ферментных систем детоксикации крови животных с термической травмой при введении динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ). Исследование проведено на 30 крысах линии Вистар, 10 из них были включены в интактную группу, остальным наносили термическую травму. Животным контрольной группы (n = 10) лечение осу-

ществляли ежедневными внутрибрюшинными инфузиями физиологического раствора. Крысы основной группы (n = 10) получали ДНКЖ в физиологическом растворе (1 : 9). Показано положительное действие ДНКЖ на состояние про- и антиоксидантных систем крови, энергетический метаболизм эритроцитов у животных с экспериментальной термической травмой.

***Ключевые слова**:* динитрозильные комплексы железа, энергетический метаболизм, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, кровь.

A.K. Martusevich[1,2], A.G. Soloveva[1], A.V. Davyduk[2]

[1]Volga federal medical research center (Nizhny Novgorod, Russia)

[2]Nizhny Novgorod state agricultural academy (Nizhny Novgorod, Russia)

SYNTHETIC BOUND FROMS OF NITRIC OXIDE IN CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS, ASSOCIATED WITH THERMAL TRAUMA

The aim of this work is estimation of action of dinitrosyl iron complexes (DNIC) on rats blood metabolism at combined thermal trauma. We studied 30 Wistar rats, divided into 3 groups: intact (n = 10), control (n = 10) and main (n = 10) group. We modeled combined thermal trauma (skin burn + thermoinhalation damage) in animals of control and main groups. Rats of control group got a infusions of sodium chloride solution (n = 10) every day. Rats of main one got infusions of DNIC solution in sodium chloride. It was shown that DNIC use leads to optimization of blood pro- and antioxidant systems state at thermal trauma, associated with high oxidative stress.

Key words: dinitrosyl iron complexes, energy metabolism, lipid peroxidation, antioxidant activity, blood.

В настоящее время показаны многочисленные положительные эффекты естественной депонированной формы оксида азота — динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) — в отношении различных биологических систем [1, 2, 5, 7]. Так, продемонстрирована эффективность их применения при экспериментальном эндометриозе, эректильной дисфункции и другой патологии [1, 7]. Ранее в наших исследованиях *in vitro* установлен характер влияния ДНКЖ на отдельные компоненты метаболизма крови человека, включая энергетический обмен, состояние про- и антиоксидантных систем [3] и т.д. Кроме того, получено подтверждение позитивного действия ДНКЖ на энергетический метаболизм эритроцитов при моделировании термической травмы, включавшего преимущественно оптимизацию функционирования лактатдегидрогеназы (ЛДГ) путем стимулирования прямой реакции фермента на фоне ингибирования обратной. В то же время комплексный анализ влияния рассматриваемого донора оксида азота на состояние крови при термической травме в литературе не представлен. В связи с этим целью работы явилось изучение динамики окислительного и энергетического метаболизма и ферментных систем детоксикации крови животных с термической травмой при введении ДНКЖ.

Материал и методы исследования. Исследование проводили на 30 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 220–250 г, разделенных на три группы равной численности: интактную (никаких манипуляций не проводили, выполняли лишь однократный забор крови), контрольную (воспроизводили термическую травму и применяли стандартное лечение) и основную (аналогична контрольной с дополнительным введением водного раствора ДНКЖ).

Животным контрольной и основной групп комбинированную травму наносили по разработанной ранее методике, включающей контактный термический ожог кожи спины (площадь — 20% поверхности тела) в сочетании с термоингаляционной

травмой. Содержание животных, экспериментальные вмешательства осуществляли согласно приказу Минздрава СССР №775 от 12.08.1977. Травму наносили под комбинированным наркозом («золетил» + «ксила»). Затем крыс разделяли на две равные по численности группы. Животным контрольной группы с первых суток после моделирования термической травмы проводили ежедневные внутрибрюшинные инфузии физиологического раствора (3 мл), раны обрабатывали левомеколем. Крысы основной группы ежедневно внутрибрюшинно получали ДНКЖ в физиологическом растворе (1 : 9 (по объему) — суммарно 3 мл), местное лечение было аналогично проводимому в контрольной группе. Продолжительность экспериментальной терапии животных обеих групп составляла 10 суток.

ДНКЖ синтезировали по методике А.Ф. Ванина [2000, с. 3–5]. Концентрация соединения в физиологическом растворе, определяемая спектрофотометрически по известной экстинкции при длинах волны 310 и 360 нм, составляла 3,1 ммоль/л.

Контрольными точками в исследовании были выбраны третьи и десятые сутки с момента нанесения комбинированной травмы. На третьи (прижизненно) и десятые (при выведении их из эксперимента) сутки выполняли получение образцов крови у животных обеих групп.

В качестве маркера интенсивности энергетического метаболизма использовали активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), а о его направленности судили по соотношению последней в прямой (ЛДГпр) и обратной (ЛДГобр) реакциях. Активность ЛДГ определяли в гемолизате эритроцитов в дистиллированной воде по методу Г.А. Кочетова (1980). Уровень лактата в эритроцитах оценивали с помощью автоматического анализатора SuperGL Ambulance. Содержание белка уточняли по модифицированному методу Лоури.

В плазме крови и эритроцитах животных всех групп и образцах крови регистрировали интенсивность хемилюминесценции, максимальную фотовспышку и общую антиоксидантную активность методом Fe-индуцированной биохемилюминесценции на аппарате БХЛ-06.

Полученные данные были обработаны в программном пакете Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение. Сравнительная оценка интенсивности перекисного окисления липидов в плазме крови здоровых и имеющих термическую травму животных позволила подтвердить данные о его стимуляции в условиях ожоговой болезни [Мартусевич и др., 2013; Парамонов и др., 2000]. Согласно нашим данным, повышение уровня светосуммы индуцированной биохемилюминесценции у обожженных крыс по сравнению с интактными составило +67,5% ($p < 0,05$). В то же время общая антиоксидантная активность плазмы крови животных при нанесении им термической травмы пропорционально снижается (-47; $p < 0,05$) по отношению к здоровым крысам. Результаты исследования состояния про- и антиоксидантных систем плазмы крови сонаправлены с данными об интенсивности процессов липопероксидации в мембранах эритроцитов. Эта динамика четко подтверждает формирование выраженного окислительного стресса у крыс контрольной группы, что обусловливает необходимость его патогенетической коррекции.

Учитывая показанные отечественными и зарубежными исследователями в системах *in vitro* антиоксидантные свойства ДНКЖ [Гудков и др., 2007; Шумаев и др., 2001; Vanin, 2009], мы провели внутрибрюшинные инъекции водного раствора данного соединения. Установлено, что рассматриваемый вариант экспериментальной терапии способствует существенному уменьшению интенсивности перекисного окисления липидов, практически достигающему уровня интактных крыс ($p < 0,05$ по сравнению с животными контрольной группы; $p > 0,05$ относительно интактной

группы), что косвенно подтверждает наличие антиоксидантных эффектов ДНКЖ *in vivo*.

Оценка действия соединения на антиоксидантную активность плазмы крови продемонстрировала значительное нарастание значения параметра. Это, по нашему мнению, свидетельствует о том, что ДНКЖ не только способны выступать в качестве «ловушки» свободных радикалов, пополнять пул антиоксидантов биологической жидкости за счет частичного распада до относительно стабильных S-нитрозотиолов и оказывать модулирующее действие на активность антиоксидантных ферментов.

Также выявлено снижение перекисной резистентности эритроцитов, что проявилось в статистически значимом уменьшении светосуммы хемилюминесценции на 22,8% по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$). Введение крысам ДНКЖ способствовало повышению перекисной резистентности эритроцитов на 18,8% по сравнению с ожогом ($p < 0,05$), причем в этом случае уровень показателя был ниже значений, характерных для животных интактной группы.

Вторым компонентом анализа метаболических показателей крови животных явилась оценка состояния энергетического обмена. Проведенные исследования позволили установить, что активность эритроцитарной ЛДГ в обратной реакции у крыс при модельной термической травме существенно изменена относительно животных интактной группы как на третьи, так и на десятые сутки послеожогового периода ($p < 0,05$). На третьи сутки послеожогового периода ЛДГпр у животных данной группы умеренно снижена, тогда как на десятые эта тенденция сглаживается. Эти данные соответствуют полученным ранее результатам [Мартусевич и др., 2013].

Системное введение ДНКЖ животным с комплексным термическим повреждением значительно модифицировало активность фермента как в прямой, так и в обратной реакциях. В частности, каталитические свойства эритроцитарной ЛДГпр у крыс данной группы на третьи сутки практически не отличались от свойств, характерных для интактных животных, значимо превосходя уровень контрольной группы ($p < 0,05$). На десятые сутки послеожогового периода у животных основной группы наблюдали выраженное нарастание активности энзима в прямой реакции, превышающее значения, выявленные для животных как интактной, так и контрольной группы в 2,02 и 2,24 раза соответственно ($p < 0,05$). С учетом метаболической сущности данной реакции (синтез пирувата с дальнейшей его поставкой в цикл Кребса) подобную динамику показателя следует расценивать как результат положительного воздействия ДНКЖ на исследуемый компонент метаболизма [Шумаев и др., 2001; Vanin, 2009].

Этому заключению в полной мере соответствует характер влияния изучаемого соединения на активность ЛДГ в обратной реакции: на третьи сутки она была лишь минимально повышена относительно уровня интактных животных (в 1,21 раза; $p < 0,05$), оставаясь значительно ниже значений, зарегистрированных у животных контрольной группы (в 2,64 раза; $p < 0,05$). Аналогичная картина имела место и на десятые сутки послеожогового периода (к моменту завершения эксперимента). Таким образом, наши исследования позволили предположить, что изучаемая форма оксида азота предотвращает избыточную активацию ЛДГобр, потенцирующую синтез лактата, известного молекулярного маркера гипоксии.

По результатам оценки уровня лактата в эритроцитах в экспериментальных группах животных установлено, что, аналогично изменениям каталитических свойств ЛДГ на третьи сутки после нанесения ожога у животных контрольной группы имело место существенное повышение концентрации лактата в эритроцитах от-

носительно уровня у интактных крыс (в 1,5 раза; $p < 0,05$), сохраняющееся к завершению эксперимента (в 1,35 раза на десятые сутки; $p < 0,05$). Данная динамика подтверждает формирующееся в результате тяжелой термической травмы смещение активности ЛДГ в сторону обратной реакции.

Иная картина регистрируется у животных, получавших инъекции ДНКЖ. У них отмечена нормализация рассматриваемого звена энергетического метаболизма крови на всех сроках. Динамика концентрации лактата в эритроцитах у животных основной группы косвенно свидетельствовала о повышении адаптационных резервов исследуемого компонента клеточной системы энергообеспечения при действии ДНКЖ.

Заключение. В нашем эксперименте получены данные о положительном действии динитрозильных комплексов железа на метаболические параметры крови животных с термической травмой, в том числе на состояние про- и антиоксидантных систем, которое обусловлено способностью ДНКЖ защищать компоненты биосистем от активных форм кислорода, продуцируемых в условиях окислительного стресса. Аналогичные тенденции имеют место и в мембранах эритроцитов. Также выявлено, что ДНКЖ стимулируют энергетический метаболизм эритроцитов крыс с термической травмой.

Библиографический список

Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН. 2000. №4. С. 3–5.

Гудков Л.Л., Шумаев К.Б., Каленникова Е.И., Ванин А.Ф., Рууге Э.К. Антиоксидантное и прооксидантное действие доноров и метаболитов оксида азота // Биофизика. 2007. Т. 52, №3. С. 503–508.

Мартусевич А. К., Соловьева А. Г., Перетягин С. П. Влияние свободного и депонированного оксида азота на энергетический метаболизм крови. Современные технологии в медицине. 2013. Т. 5, №4. С. 33–38.

Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги. СПб., 2000.

Шумаев К.Б., Рууге Э.К., Ланкин В.З. и др. Механизм ингибирования свободнорадикального окисления β-каротина S-нитрозоглутатионом и динитрозильными комплексами железа // Докл. РАН. 2001. Т. 379, №5. С. 702–704.

Borodulin R.R., Kubrina L.N., Shvydkiy V.O. et al. A simple protocol for the synthesis of dinitrosyl iron complexes with glutathione: EPR, optical, chromatographic and biological characterization of reaction products // Nitric oxide. 2013. Vol. 35. P. 110–115.

Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // Nitric Oxide Biol. Chem. 2009. Vol. 21. P. 136–149.

УДК 615.322:582.794.1

Н. Мунхжаргал

Институт социального здоровья (Уланбатор, Монголия)

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЦВЕТКЕ КУЛЬТИВИРОВАННОЙ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

Целью данной работы является изучение биологически активных соединений в цветках календулы лекарственной. В цветках календулы лекарственной обнаружены: каротиноиды, флавоноиды, алкалоиды, дубильные вещества и аскорбиновая кислота. Количественное содержание биологически активных веществ в цветках календулы лекарственной составило: каротиноидов 1,43 ± 0,022% (в пересчете на β-каротина), флавоноидов 2,88 ± 0,03%, алкалоидов 0,12 ± 0,03%, дубильных веществ 1,23 ± 0,07%, ас-

корбиновой кислоты 0,07 ± 0,005%, экстрактивных веществ 40.18 ± 0.92%. Данные проведенных исследований определяют перспективность дальнейшего изучения и рекомендации использования цветков календулы лекарственной в качестве потенциального лекарственного средства.

Ключевые слова: календула лекарственная, цветки, каротиноиды, флавоноиды, биологически активные вещества.

N. Munkhjargal

Public health institute (Ulaanbaatar, Mongolia)

THE STUDY OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN *CALENDULA OFFICINALIS* FLOWERS

The aim of this work is to study of biologically active compounds in flowers of Calendula officinalis. Flowers of Calendula officinalis detected: carotenoids, flavonoids, alkaloids, tannins and ascorbic acid. Quantification of biologically active compound in the flowers Calendula officinalis was: carotenoids 1,43 ± 0,022% (calculated as β-carotene), flavonoids 2,88 ± 0,03%, alkaloids 0,12 ± 0,03%, tannins 1,23 ± 0,07% and ascorbic acid 0,07 ± 0,005%. These studies define the perspective of further study and recommendations concerning the use of biologically active compounds of flowers Calendula officinalis as a potential drug.

Key words: calendula officinalis, flowers, carotinoids, flavonoids, biologically active compounds.

Календула лекарственная — однолетнее травянистое растение высотой до 50–60 см, семейства сложноцветных *(Compositae*). Родина календулы — Центральная и Южная Европа, Средняя Азия. В Монголии культивируется как декоративное и лекарственное растение. С лечебными целями используются цветочные корзинки.

Календулу в лечебных целях применяют как антисептическое, противовоспалительное, ранозаживляющее средство. Используют ее также как мочегонное, потогонное, отхаркивающее, болеутоляющее, десенсибилизирующее и общеукрепляющее средство.

В последние годы наблюдается сокращение запасов, а зачастую и уничтожение многих ценных видов растений в связи с нерациональным отношением к сырьевому потенциалу нашей страны, а для производства фитопрепаратов необходимо наличие достаточной стабильной сырьевой базы, обеспечить которую в настоящее время могут только культивируемые растения.

В качестве сырья использовали цветки культивированной календулы лекарственной, собранных в фазу цветения и высушенных до воздушно-сухого состояния. Показатели качества растения определяли в аналитических пробах исследуемых объектов, изготовленных в лабораторных условиях в трех повторностях.

Фитохимический анализ проводили по общепринятым методикам с использованием качественных реакций и тонкослойной хроматографии на пластинках Sorbfil [Краснов, 1987].

Определение флавоноидов проводится отдельно методом спектрофотометрии по реакции с алюминия хлоридом. Содержание суммы каротиноидов определяют спектрофотометрическим методом при пересчете на β-каротин в мг%. Оптическую плотность измеряют при длине волны 450 нм. В качестве раствора сравнения используют гексан. Дубильные вещества и аскорбиновую кислоту определяли титриметрическим методом [Государственная фармакопея, 1987]. Данные анализов приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Качественный анализ биологически активных веществ цветков календулы лекарственной

№	Биологически активные вещества	Используемый реагент	Аналитический эффект	Результат
1	Алкалоиды	Реактив Драгендорфа	Оранжевое окрашивание	+
2	Дубильные вещества	Железо-аммониевые квасцы	Темно-зеленое окрашивание	+
3	Флавоноиды	Цианидиновая проба	Оранжевое окрашивание	+
4	Аскорбиновая кислота	Иодат калия	Темно-синий	+
5	β-каротиноиды	Хроматографирование	Синие пятна на желто-зеленом фоне	+

В таблице 1 показано, что в цветках календулы лекарственной содержатся алкалоиды, флавоноиды, дубильные вещества, каротиноиды и аскорбиновая кислота.

Таблица 2

Количественное содержание биологически активных веществ в цветках культивированной календулы лекарственной

№	Биологически активные вещества	Содержание биологически активных веществ, %
1	*β*-каротин	1.43 ± 0.022
2	Флавоноиды	2.88 ± 0.03
3	Алкалоиды	0.12 ± 0.03
4	Дубильные вещества	1.23 ± 0.07
5	Аскорбиновая кислота	0.07 ± 0.005
6	Экстрактивные вещества	40.18 ± 0.92
7	Зола	11.75 ± 0.05
8	Влажность	5.95 ± 0.22

Итак, в цветках календулы лекарственной содержатся алкалоиды 0.12%, дубильные вещества 1.23%, *β*-каротин 1.43%, флавоноиды 2.88%, аскорбиновая кислота 0.07%, экстрактивные вещества 40.18%, зола 11.75%, влажность 5.95%.

Библиографический список

Краснов Е.А., Березовская Т.П., Алексеюк Н.В. и др. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / под ред. Е.М. Сироткиной. Томск, 1987. 184 с.

Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное сырье. 11-е изд. доп. М., 1987. Вып. 2. 400 с.

УДК 616.345/.35-006.6-018-039.36-085.015-02

А.С. Портянко[1], С.Т. Акалович[2], А.Н. Пундик[2], Н.В. Гончарова[2], А.Б. Межеевский[1], Т.М. Дорошенко[2]

[1]Белорусский государственный медицинский университет (Минск, Беларусь)

[2]Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск, Беларусь)

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ β_{III}-ТУБУЛИНА (TUBBIII) НА РОСТОВЫЕ И ИНВАЗИВНЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ЧЕЛОВЕКА

Изучено влияние β_{III}-тубулина на рост, адгезивные и инвазивные свойства клеток колоректального рака человека HT-29 и HCT116. Было установлено, что снижение экспрессии β_{III}-тубулина в условиях РНК-интерференции снижает адгезию раковых клеток к коллагену, их ростовые и инвазивные свойства, но не влияет на жизнеспособность. Эти данные позволяют предполагать участие β_{III}-тубулина в клеточных процессах, тесно связанных с нарушенной адгезией, таких как опухолевая трансформация, эпителиально-мезенхимальная транзиция, метастазирование и опухолевая прогрессия колоректального рака.

***Ключевые слова*:** колоректальный рак, тубулин, инвазивность, адгезивность, РНК-интерференция.

A.S. Portyanko[1], S.T. Akalovich[2], A.N. Pundik[2], N.V. Goncharova[2], A.B. Mezheyeuski[1], T.M. Doroshenko[2]

[1]Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

[2]Republican Science Practical Center of Transfusion and Medical Biotechnologies (Minsk, Belarus)

THE INFLUENCE OF REGULATION OF β_{III}-TUBULIN EXPRESSION (TUBBIII) ON THE GROWTH AND INVASIVE PROPERTIES OF HUMAN COLORECTAL CANCER CELLS

The influence of β_{III}-tubulin on the growth, adhesive and invasive characteristics of colorectal cancer cells HT-29 and HCT116 was studied. It was found that the down-regulation of β_{III}-tubulin reduces the adhesion of tumor cells to collagen, their invasive properties and slows growth of tumor cells *in vitro* without affecting their viability. This data argue in favor of the important role of β_{III}-tubulin in the processes connected to adherent-independent cell growth like epithelial-mesenchymal transition, cancer progression and metastatic colonization.

Key words: colorectal cancer, tubulin, invasiveness, adhesion, RNA-interference.

Колоректальный рак (КРР) занимает второе место как причина смерти от онкологических заболеваний в высокоразвитых странах (ВОЗ, 2008). Способность раковых клеток к инвазии и метастазированию является фундаментальным свойством злокачественных опухолей. Метастазы являются основным фактором, отягощающим прогноз колоректального рака. Несмотря на быстрое развитие методов диагностики, хирургического и комбинированного лечения заболевания, процент метастазов и рецидивов колоректального рака остается высоким. Отдаленные результаты лечения больных колоректальным раком напрямую зависят от ряда факторов, включающих стадию заболевания, степень дифференцировки опухоли, ее метастатический потенциал, формирующуюся устойчивость к противоопухолевым препаратам и др. Одним из подходов в лечении является использование химиотерапевтических препаратов, блокирующих митотическое веретено и подавляющих деление клеток. Молекулой-мишенью таких препаратов является β-тубулин — со-

ставной компонент микротрубочек, структур, необходимых для клеточного деления, внутриклеточного транспорта, поддержания формы клетки и ее тургора [Luduena et al., 2008, p. 123–175]. Микротрубочки представляют собой полые длинные филаменты, состоящие из димеров α- и β-тубулина, которые могут быть представлены различными изотипами. У человека пул клеточных тубулинов представлен 8 изотипами α-тубулина и 7 изотипами β-тубулина, с различной ткане- и органоспецифичностью [Karki et al., 2013, p. 461–472]. Различные изменения в составе и посттрансляционной модификации тубулинов происходят в канцерогенезе как солидных, так и гематологических опухолей [Parker et al., 2014, p. 2–8]. Эти изменения часто ассоциированы с химиорезистентностью и плохим прогнозом для целого ряда нозологий. Наиболее изученным и важным в практическом аспекте является экспрессия β_{III}-тубулина (TUBBIII) [Marianni, 2011, p. 726–731]. В норме его экспрессия ограничена нейронами и клетками Сертоли, в следовых количествах он выявляется в других тканях. Интенсивно изучается потенциальная роль TUBBIII как маркера плохого прогноза и ответа на широкий круг цитостатических препаратов при целом ряде эпителиальных раков [Marianni, 2011, p. 726–731]. Нами показано усиление экспрессии данного тубулина в инвазивном крае опухоли у пациентов с колоректальным раком [Портянко и др., 2014, с. 50–53; Portyanko et al., 2009, p. 541–548], что поднимает вопрос о возможной роли этого изотипа тубулина в прогрессии данного вида рака.

Целью нашего исследования явилось установление роли β_{III}-тубулина в жизнеспособности, ростовых и инвазивных свойствах опухолевых клеток колоректального рака.

Материалы и методы. Исследование проведено на клеточных линиях КРР человека HT-29 и HCT116, в которых нами ранее была обнаружена экспрессия β_{III}-тубулина. Клетки культивировали в полной среде RPMI 1640 («Lonza»), содержащей пенициллин и стрептомицин в концентрации 100 ед./мл и 100 мкг/мл, а также 10% эмбриональной телячьей сыворотки в культуральных флаконах в атмосфере, содержащей 5% CO_2, при температуре +37 °С. Для снятия клеток с подложки клеточную культуру трипсинизировали добавлением фосфатно-солевого буфера (ФСБ), содержащего 0,25% трипсина и 5 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты, при 37 °С, 2–3 мин. Подсчет клеток производили в камере Горяева методом исключения трипанового синего.

Трансфекция и РНК-интерференция. Состояние РНК-интерференции в клеточных линиях получали путем трансфекции в клетки малых интерферирующих РНК (siRNA), представляющих собой смесь из 4 последовательностей специфичных к разным участкам гена β_{III}–тубулина (siGENOMESMARTpool TUBB3, Dharmacon, «ThermoScientific»). В качестве контроля использовали siRNA, не имеющую гомологии ни к одному известному гену в последовательности ДНК человека. Обе siRNA были от «Thermo Scientific». Трансфекцию осуществляли с использованием набора реагентов (Dharmacon dharmaFECT siRNA, «Thermo Scientific») согласно рекомендациям производителя. Через 24 часа ростовую среду заменяли на полную ростовою среду, содержащую пенициллин-стрептомицин. Еще через 48 часов клетки отмывали, снимали с подложки трипсинизацией и анализировали содержание белка различных изотипов тубулина, а также инвазивную и адгезивную активность.

Электрофорез и вестерн-блоттинг. К монослою клеток добавляли лизирующий буфер (RIPA), инкубировали 20 мин на льду, собирали в охлажденные пробирки типа «эппендорф», центрифугировали на максимальной скорости (13000 об./мин) при 0 °С. Надосадочную часть подвергали электрофоретическому разделению с применением стандартного набора белков с известными молекулярными массами.

Электрофорез проводился в вертикальных пластинах полиакриламидного геля (12,5%) в денатурирующих условиях с додецилсульфатом натрия, согласно методике Лэмли [Laemmli, 1970, p. 680–685]. Для проведения иммуноблоттинга белковые фракции после электрофореза переносили с помощью электроэлюции из геля на нитроцеллюлозные мембраны «Hybond C» («Pharmacia»). Мембраны инкубировали с антителами к β_{III}–тубулину, β_{I}–тубулину или β-актину («Abcam») в концентрации 2–5 мкг/мл в течение 18 ч на холоде, затем отмывали и инкубировали с антителами против мышиных IgG, меченных полипероксидазой (EnVision, DAKO) и проявляли с помощью хромогена диаминобензидин («BioGenex»). Мембраны после окраски анализировали на Kodak Image Station 2000R. Денситометрическое измерение результатов вестерн-блоттинга проводилось с использованием программного пакета ImageJ 1.47v (NIH).

Оценка ростовых свойств клеток. После трансфекции клетки растили 48 часов в 6-луночной культуральной плате, затем культуру трипсинизировали, число живых клеток подсчитывали в камере Горяева трижды для каждой культуры. В качестве контроля использовали интактную аналогичную культуру. Ростовую активность выражали в процентах по отношению к контрольной культуре.

Оценка клеточного цикла, апоптотических и некротических процессов. Для анализа распределения клеток по фазам клеточного цикла проводили окраску предварительно фиксированных в 70% ледяном этаноле клеток с иодидом пропидия, как описано ранее [He et al., 2013, p. 36–47]. Окраску клеток для оценки апоптоза проводили с использованием ANNEXIN V-FITC/7-AAD KIT (Beckman-Coulter), следуя инструкции производителя. В анализ брали 10^6 клеток на точку, все культуры окрашивались в дуплете. Учет результатов проводили на проточном цитофлуориметре Becton Dickinson FACScan.

Определение инвазивной активности клеток. Инвазивная активность клеток HT-29 и HCT116 оценивалась в 24-луночных инвазивных камерах производства Costar (Corning Inc.) в соответствии с рекомендациями производителя. Мембраны-вкладыши с 8,0 μм порами покрывались Matrigel (BD Biosciences) или бычьим коллагеном типа I (Gibco), после чего в верхнюю часть инвазивной камеры вносились трипсинизированные отмытые клетки в равной концентрации (50 000/100 мкл неполной ростовой среды), в нижнюю часть камеры вносили 600 мкл полной ростовой среды и инкубировали в течение 24 часов при 37 °C во влажной газовой среде, содержащей 5% CO_2. После инкубации клетки, инвазировавшие в нижнюю камеру, фиксировали в течение 15 минут в ФСБ, содержащем 4% формальдегида, отмывали в большом объеме ФСБ и окрашивали кристаллическим фиолетовым. Подсчет проводился в не менее трех полях зрения светового микроскопа для каждого варианта теста.

Оценка адгезивных свойств клеток. Клетки рассевали в культуральной среде RPMI 1640, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки, в плотности 15×10^4 клеток/лунку 24-луночной платы, предварительно покрытой коллагеном типа I (Gibco) в концентрации 50 мкг/мл. После 30 мин культивирования при +37 °C среду с неадгезированными клетками удаляли. Подсчет неадгезированных клеток проводили с трипановым синим. Уровень адгезии (УА) вычисляли по формуле

$$\text{УА} = 100\% - \frac{\text{число клеток в супернатанте (неадгезировавшихся)}}{\text{число клеток,посаженных в лунку}} \times 100\%.$$

Статистический анализ. Статистическая обработка проводилась с использованием Microsoft Office Excel 365 (лицензионная копия), результаты представлены в виде среднее ± стандартное отклонение. Для анализа данных применялся ANOVA тест. Нулевая гипотеза отклонялась при значении $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Чтобы оценить вклад β_{III}-тубулина, перспективного фактора прогноза при различных видах рака, в ростовые свойства клеток КРР человека, мы провели эксперименты с транзиторным «выключением» данного изотипа тубулина. Для этого в клетки линий HCT116 и HT-29 вводилась siRNA, вызывающая селективную транзиторную супрессию трансляции гена β_{III}-тубулина (TUBB3). Степень подавления синтеза β_{III}-тубулина контролировали в вестерн-блоттинге лизатов клеток спустя 72 часа после трансфекции. Результаты представлены на рисунке 1. Уровень экспрессии β_I-тубулина, основной формы тубулина, необходимой для поддержания нормального функционирования клетки, значительно не изменялся (не показано).

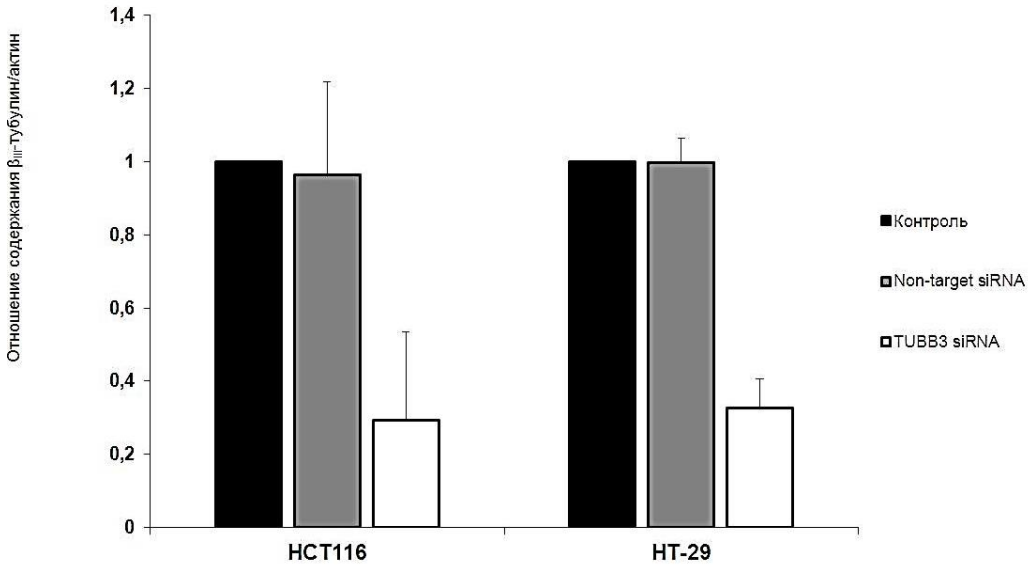
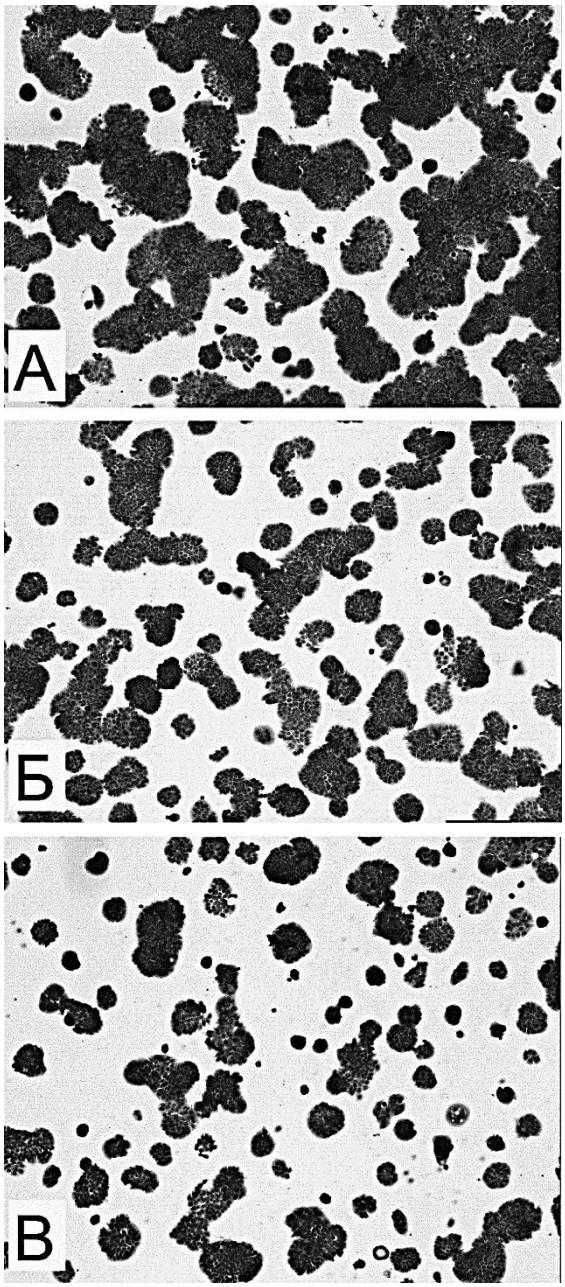


Рис. 1. Денситометрия TUBB3 в лизатах клеток линий HCT116 и HT-29 после трансфекции. Отношение содержания TUBB3 к актину в интактных клетках (контроль) было принято за единицу, относительно которого оценивали подобное отношение в клетках спустя 72 часа после трансфекции нецелевой siRNA или TUBB3 siRNA

Подавление экспрессии β_{III}-тубулина сопровождалось значительным изменением плотности культур (рис. 2). Через 72 часа после трансфекции плотность культуры клеток HT-29 составила 101,7 ± 12,8% для нецелевой siRNA и 58,5 ± 13,8% для TUBB3 siRNA (плотность интактной культуры принималась за 100%). Для клеток HCT116 аналогичные показатели составили 85,0 ± 21,7% и 34,8 ± 16,6%.

Мы решили изучить, по какому механизму происходит снижение плотности культуры клеток КРР после «выключения» гена β_{III}-тубулина. Для ответа на вопрос о жизнеспособности клеток с «выключенной» экспрессией β_{III}-тубулина клетки были окрашены аннексином V и 7-амино-актиномицином-Д (7ААД), маркерами апоптоза и некроза. Как в клетках HT-29, так и HCT116, не было выявлено увеличения количества апоптотических либо некротизировавших клеток (не показано), что свидетельствует о том, что уменьшение клеток в культуре после трансфекции происходит по иным механизмам. Полученные данные согласуются с результатами исследований J. Guo, в которых была продемонстрирована витальная значимость β_I-тубулина, в то время как β_{III}-изотип не влиял на жизнеспособность клеток [Guo et al., 2010, p. 431–441]. Мы также проанализировали распределение клеток линии HCT116 с подавленной экспрессией β_{III}-тубулина по фазам клеточного цикла (рис. 3).



Как видно из представленных данных, клетки после трансфекции TUBB3 siRNA и non-target siRNA характеризовались одинаковым распределением по фазам клеточного цикла, сходным с таковым для интактного контроля. Возможным механизмом снижения плотности культуры клеток КРР с подавленной экспрессией TUBB3 является снижение адгезивных свойств клеток и их «detachment» с пластиковой подложки в суспензию.

Для проверки такой возможности мы изучили адгезивные свойства клеток после трансфекции siRNA в анализе с использованием покрытых коллагеном чашек Петри. Уровень адгезии снизился с 82,2 ± 4,2% до 67,2 ± 7,9% ($p = 0,0436$) для HCT 116 и с 73,9 ± 2,5% до 36,1 ± 11,1% ($p = 0,0044$) для клеток HT-29.

Инвазивную активность клеток КРР после трансфекции анализировали в тесте в тесте с использованием пористых мембран, покрытых молекулами межклеточного матрикса. При этом количество инвазировавших в мембрану клеток уменьшилось в среднем (по данным трех независимых экспериментов) с 36,3 ± 23,3 до 9,9 ± 4,4 клеток в поле зрения для HT-29 ($p < 0,05$) и с 10,9 ± 10,0 до 2,7 ± 3,2 для HCT 116 ($p < 0,05$).

Рис. 2. Культура HCT116 через 72 часа после трансфекции:
А — интактный контроль; Б — нецелевая siRNA; В — TUBB3 siRNA.
Окраска гематоксилином и эозином. Объектив ×5

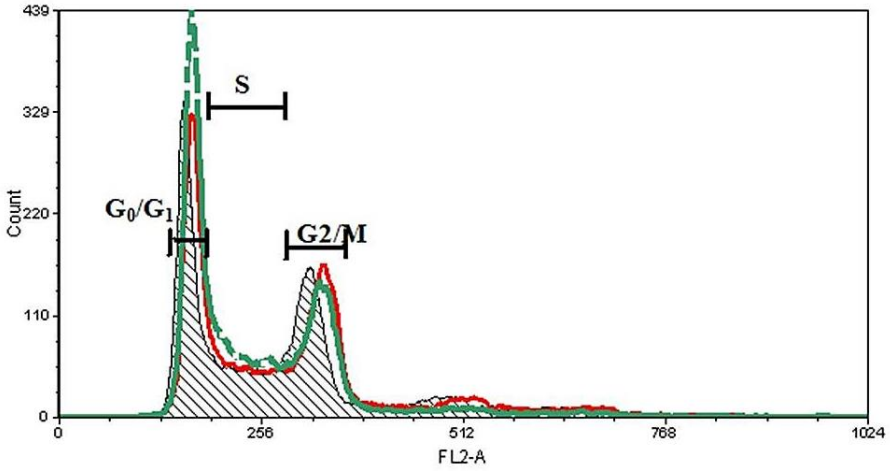


Рис. 3. Распределение клеток линии HCT116 по фазам клеточного цикла через 72 часа после трансфекции: штриховка — интактный контроль, сплошная полужирная — нецелевая siRNA, прерывистая полужирная — TUBB3 siRNA

Возможным механизмом снижения инвазивности клеток в условиях сниженной экспрессии β_{III}-тубулина может быть подавление адгезии клеток к молекулам внеклеточного матрикса.

Таким образом, экспериментальные данные свидетельствуют о важной роли β_{III}-тубулина в ростовых свойствах опухолевых клеток, при этом экспрессия β_{III}-тубулина не влияет на их жизнеспособность и распределение по фазам клеточного цикла в стандартных культуральных условиях. Возможным механизмом уменьшения плотности их культур *in vitro* может быть снятие с подложки за счет снижения адгезивности и нарушения межклеточных контактов. Полученные данные свидетельствуют о вкладе белка β_{III}-тубулина в инвазивность клеток линий колоректального рака человека, и, учитывая, что транзиторное выключение гена β_{III}-тубулина путем РНК-интерференции в раковых клетках приводит к выраженному угнетению их инвазивности, можно рассматривать β_{III}-тубулин как возможную мишень терапевтического воздействия на пул клеток, формирующих метастазы. Вовлеченность β_{III}-тубулина в процессы адгезии клеток КРР к молекулам межклеточного матрикса позволяет предположить об участии β_{III}-тубулина в событиях, тесно связанных с нарушенной адгезией, таких как опухолевая трансформация, эпителиально-мезенхимальная транзиция, метастазирование и опухолевая прогрессия КРР.

Список сокращений

7ААД — 7-амино-актиномицином-Д; КРР — колоректальный рак; ФСБ — фосфатно-солевого буфера; TUBB3β_{III} — тубулина.

Библиографический список

Портянко А.С., Ковалев П.А., Межеевский А.Б., Горгун Ю.В., Черствый Е.Д. Экспрессия β-III-тубулина в клетках колоректального рака // Медицинские новости. 2014. №4. С. 50–53.

Guo J., Walss-Bass C., Ludueña R.F. The beta isotypes of tubulin in neuronal differentiation // Cytoskeleton. 2010. V. 67. P. 431–441.

He L., Lu N., Dai Q., Zhao Y., Zhao L., Wang H., Li Z., You Q., Guo Q. Wogonin induced G1 cell cycle arrest by regulating Wnt/β-catenin signaling pathway and inactivating CDK8 in human colorectal cancer carcinoma cells // Toxicology. 2013. V. 312. P. 36–47.

Karki R., Mariani M., Andreoli M., He S., Scambia G., Shahabi S., Ferlini C. βIII-Tubulin: biomarker of taxane resistance or drug target? // Expert Opin. Ther. Targets. 2013. V. 17. P. 461–472.

Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. V. 227. P. 680–685.

Luduena R.F., Banerjee A. The role of microtubules in cell biology, neurobiology, and oncology // Eds. Fojo T. N.Y., 2008. P. 123–175.

Mariani M., Shahabi S., Sieber S., Scambia G., Ferlini C. Class III beta-tubulin (TUBB3): more than a biomarker in solid tumors? // Curr. Mol. Med. 2011. V. 11. P. 726–731.

Parker A., Kavallaris M., McCarroll J.A. Microtubules and their role in cellular stress in cancer // Frontiers in Oncology. Molecular and Cellular Oncology. 2014. V. 153. P. 2–8.

Portyanko A., Kovalev P., Gorgun J. βIII-tubulin at the invasive margin of colorectal cancer: possible link to invasion // Virchows Arch. 2009. V. 454. P. 541–548.

УДК 664.251:573.6

Ю.М. Позднякова, Т.Н. Пивненко

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет — Дальрыбвтуз (Владивосток, Россия)

ПРЕПАРАТЫ ВЫСОКОПОЛИМЕРНОЙ ДНК ИЗ МОЛОК ЛОСОСЕЙ И ОСЕТРОВ: ПРЕДПОСЫЛКИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СОСТАВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Проведено выделение высокополимерной ДНК из молок кеты *Oncorhynchus keta* и осетра *Acipenser schrenckii.* Определена активность протеолитических и нуклеолитических ферментов в молоках исследуемых видов. Полученные результаты указывают на преобладание в молоках рыб кислых нуклеаз и щелочных протеиназ. Исследован химический состав полученных препаратов для оценки их чистоты. Показано, что препараты содержат 91 ± 3,6% ДНК, 5% ± 0,6 белка, 0% липидов для кеты и 85,8 ± 3,9% ДНК, 8,0 ± 3,1% белка, 1,2 ± 0,05% липидов для осетра. Молекулярная масса, соотношение оптических плотностей $A_{260/280}$ и значения гиперхромного эффекта ДНК из молок кеты соответствуют требованиям для фармацевтических препаратов.

Ключевые слова кета, осетр, ДНК, полинуклеотиды, гиперхромный эффект, протеазы, нуклеазы, полиохимиотерапия.

Yu.M. Pozdnyakova, T.N. Pivnenko

Far Eastern State Technical Fisheries University — Dalrybvtuz (Vladivostok, Russia)

PREPARATIONS OF HIGH-POLYMER DNA FROM MILTS OF SALMONS AND STURGEONS: PREREQUISITES FOR APPLICATION AS PHARMACEUTICALS

There were carried out isolation high-polymer DNA from milt of chum salmon *Oncorhynchus keta* and sturgeon *Acipenser schrenckii*. There were determined the activities of proteolytic and nucleolytic enzymes in milt of studied species. The results indicate the predominance in the both milts acid nucleases and alkaline proteases. There was investigated the chemical composition of the preparations to assess their purity. It was shown that the preparations contain: 91 ± 3,6% DNA, 5% ± 0,6 protein, 0% lipids for chum and 85,8 ± 3,9% DNA, 8,0 ± 3,1% protein, 1,2 ± 0,05% lipids for sturgeon. The molecular weight, the ratio of the optical densities of A260/280 values and hyperchromic effect of DNA from chum salmon milt corresponded of the requirements for pharmaceuticals.

Key words chum salmon, sturgeon, DNA, polynucleotides, hyperchromic effect, proteases, nucleases, poliohimioterapy.

В настоящее время препараты дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) с молекулярной массой от 300 до 600 кДа применяют как лекарственные средства и БАД к пище. Подобные препараты эффективны при лечении болезней сердца, гриппа, острых респираторных и аллергических заболеваний [Применение Дерината в педиатрии, 2008, с. 65, 24, 46], при онкологических заболеваниях [Пятаев и др., 2014, табл. 2–3, с. 961; Беседнова, Федянина, 2009, с. 16; Пат. РФ №9610334], для стимуляции лейкопоэза [Пат. РФ №93046329], при лечении сахарного диабета, неспецифического язвенного колита, инфаркта миокарда, ряда инфекционных заболеваний [Пат. РФ №95120725]. Украинскими учеными разработан препарат для лечения злокачественных новообразований, который представляет собой конъюгат цисплатина (дихлордиаминоплатина) и макромолекулярного носителя (4–6·10^6 Да) — природной ДНК из органов сельскохозяйственных животных. Показана высокая эффективность высокополимерной формы ДНК (свыше 1·10^6 Да). Преимуществами препарата перед стандартными химиопрепаратами является отсутствие выражен-

ной системной токсичности, хорошей переносимости и эффективности при резистентности к стандартным схемам химиотерапии [Яценко и др., 2008, с. 22].

Ограниченность сырьевой базы и невысокий выход целевого продукта явились предпосылками для поиска новых источников ДНК, в качестве которых в данной статье рассмотрены молоки рыб.

При выделении ДНК большое влияние на степень ее полимерности оказывают эндогенные ферменты (протеазы и нуклеазы), исходно содержащиеся в молоках, поэтому при выборе новых сырьевых источников ДНК возникает необходимость в исследовании активности вышеуказанных ферментов.

В качестве объектов были выбраны молоки кеты *Oncorhynchus keta* и осетра *Acipenser schrenckii* 6-й стадии зрелости. Количество ДНК определяли в сырье по методу Дише [Карклиня и др., 1989, с. 123], в препаратах по Спирину [Спирин, 1958, с. 657]. Активность ферментов — по методу Каверзневой [Каверзнева, 1971, с. 226]. При получении ДНК первоначально использовали метод высаливания 2 М NaCl [Гафуров, 1999, с. 123].

Количественное содержание ДНК в исследуемом сырье составило для молок лосося — 8,0 ± 1,3%; осетра — 9,5±2,1%. Количество белка и липидов — 12,5 ± 0,5 и 5,5 ± 0,7; 1,0 ± 0,3 и 25,0 ± 2,3 соответственно. Большое количество липидов в молоках осетров затрудняет процесс выделения ДНК и требует введения стадии отделения липидов.

В молоках рыб содержатся ферменты, приводящие к деструкции ДНК уже на первых стадиях ее выделения. Это щелочные металлозависимые дезоксирибонуклеазы (КФ 3.1.27.5), кислые ДНКазы (КФ 3.1.22.1). В обоих случаях в продуктах гидролиза обнаруживаются олигонуклеотиды. Также в молоках рыб присутствуют протеиназы, гидролизующие белки нуклеопротеидного комплекса, распад которого обеспечивает доступ нуклеаз к ДНК и ее деструкцию. В молоках исследуемых видов рыб определяли активность дезоксирибонуклеаз и протеиназ (табл.).

Активность эндогенных ферментов в молоках кеты и осетра, Е/г

Вид	Протеазы			Дезоксирибонуклеазы	
	кислые	нейтральные	щелочные	кислые	щелочные, Ca,Mg-зависимые
Кета	0	0,07±0,003	0,33±0,010	381,0±17,1	105,0±4,3
Осетр	0	0,06±0,002	0,14±0,005	184,4±7,7	59,7±2,4

Полученные результаты указывают на преобладание в молоках рыб кислых ДНКаз, подобных ДНКазе II (КФ 3.1.22.1) и щелочных протеиназ, наиболее вероятно, химотрипсинового типа [Позднякова, 2003, с. 12; Lambert et al., 2002, p. 94]. В целом молоки кеты содержали более активный комплекс ферментов, что может приводить к деградации ДНК в процессе ее выделения. Для снижения или подавления активности ферментов выбирают низкотемпературные режимы и добавление цитрата натрия [Гафуров, 1999, с 123].

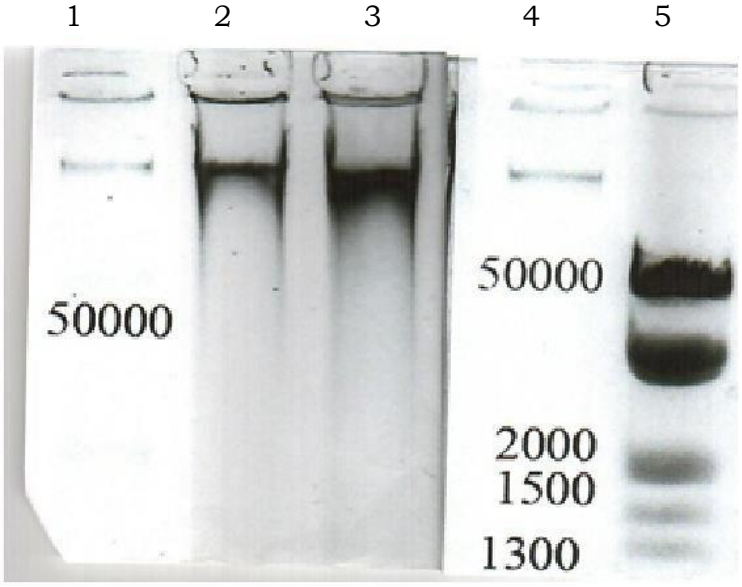
Согласно патенту на изобретение противоопухолевого средства полиплатиллен [Пат. Украины №86338], в препарате ДНК содержание последней должно быть не менее 90%, белка не более 5%, липиды отсутствуют. В качестве критерия чистоты используют соотношение величин оптической плотности в растворе препарата $A_{260/280}$, величина которого должна быть не ниже 1,8. Молекулярная масса целевого продукта должна быть не менее $4 \cdot 10^6$ кДа.

В разработанном нами методе выделения высокополимерной ДНК использовали концентрированные растворы солей, ограниченный протеолиз с помощью эндо-

генных ферментов и осаждением этанолом. Полученные таким способом препараты содержали: 91 ± 3,6% ДНК, 5 ± 0,6% белка, 0% липидов для кеты и 85,8 ± 3,9% ДНК, 8,0 ± 3,1% белка, 1,2 ± 0,05% липидов для осетра.

Соотношение $A_{260/280}$ для ДНК лососей составило 1,87, осетра — 1,69, что ниже нормируемого показателя. Исследовали гиперхромный эффект полученных препаратов, соответствующий способности к сохранению нативной структуры ДНК при различных температурах. Наименее стабильной оказалась ДНК кеты при гиперхромном эффекте в 79%. Для ДНК осетра этот показатель составил лишь 13%.

В полученных препаратах была определена молекулярная масса ДНК (рис.), составившая для ДНК и кеты, и осетра более 50 тысяч пар оснований ($3 \cdot 10^7$ Да), что соответствует предъявляемым требованиям.



Молекулярная масса препаратов ДНК:
кета (2-й столбик); осетр (3-й столбик); маркеры EcoRI HindIII (5-й столбик)

Полученные качественные характеристики ДНК из молок кеты соответствуют требования, предъявляемым к лекарственным препаратам для полихимиотерапии.

Таким образом, выявлены перспективные сырьевые источники высокополимерной ДНК, определены особенности ферментного состава молок рыб, влияющие на сохранение нативной структуры ДНК. Разработан метод, позволяющий выделить препарат, соответствующий нормам фармакопейной статьи, из молок кеты. Для получения аналогичного препарата из молок осетра требуется доработка технологических приемов.

Библиографический список

Беседнова Н.Н., Федянина Л.Н. Противоопухолевое действие экзогенной дезоксирибонуклеиновой кислоты // Тихоокеанский медицинский журнал. 2009. №3. С. 12–18.

Гафуров Ю.М. Дезоксирибонуклеазы: методы исследования и свойства. Владивосток, 1999. 230 с.

Каверзнева Е.Д. Стандартный метод определения протеолитической активности для комплексных препаратов протеаз // Прикладная биохимия и микробиология. 1971. Т. 7, №2. С. 225–228.

Карклиня В.А., Бирска И.А., Лимаренко Ю.А Количественное определение нуклеиновых кислот в молоках лососевых различными методами // Химия природных соединений. 1989. Т. 1. С. 122–126.

Патент РФ 93046329. Способ стимуляции лейкопоэза / И.Д. Трещалин, Д.А. Бодягин, Э.Р. Переверзева и др., заявл. 11.10.93, опубл. 10.05.97.

Патент РФ 95120725. Способ лечения заболеваний, характеризующихся аутоиммунной агрессией / В.В. Стариков, В.А. Мягкоходов, С.Ю. Родионов, заявл. 05.12.95, опубл. 20.09.99.

Патент РФ 96103348. Способ лечения запущенных форм опухоли органов брюшной полости / Э.Н. Каплина, М.В. Гринев, Ю.Н. Цыбин и др., заявл. 26.02.1996, опубл. 20.05.1998.

Патент Украины 86338. Противоопухолевое средство на основе комплекса платины с ДНК и способ его получения / И.И. Волченскова, Н.М. Майданевич, О.С. Сокирко, заявл. 22.12.2008, зарегистр. 10.04.2009, опубл. 25.12.2013.

Позднякова Ю.М. Технология биологически активных добавок к пище на основе ферментативного гидролиза гонад гидробионтов : автореф. дис. … канд. техн. наук. Владивосток, 2003. 23 с.

Применение Дерината в педиатрии : пособие для практикующих врачей / под ред. А.И. Кусельмана. М., 2008. 88 с.

Пятаев Н.А., Минаева О.В., Зырняева Н.Н., Кокорев А.В., Гуревич К.Г., Заборовский А.В., Щукин С.А. Эффективность ДНК-конъюгированных форм доксорубицина и цисплатина при холангиоцеллюлярной карциноме // Фундаментальные исследования. 2014. №10. С. 959–963.

Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот // Биохимия. 1958. Т. 23, №5. С. 656–662.

Яценко Л.Д., Лялькин С.А., Майданевич Н.М. Применение полиплатиллена в химиотерапии распространенных форм рака поджелудочной железы // Клиническая хирургия. 2008. №7. С. 20–23.

Lambert C.C., Someno T., Sawada H. Sperm surface proteases in ascidian fertilization // J. Exp. Zool. 2002. V. 292, №1. P. 88–95.

УДК 616.155.392: 616-006.446

А.И. Свирновский, В.В. Пасюков, Н.А. Федуро,
О.В. Сергиевич, И.Б. Тарас, А.В. Бакун

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Минск, Беларусь)

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК КАК ПУТЬ К ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ТЕРАПИИ ЛЕЙКОЗОВ

Доклиническая диагностика лекарственной чувствительности опухолевых клеток кроветворной системы способствует назначению адекватной терапии и ее индивидуализации.

Ключевые слова: лейкоз, лекарственные средства, чувствительность клеток *ex vivo*, значение для терапии.

A.I. Svirnovski, V.V. Pasiukov, N.A. Feduro,
O.V. Sergievich, I.B. Taras, A.V. Bakun

Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies (Minsk, Belarus)

PRECLINICAL DRUG SENSITIVITY INVESTIGATION OF MALIGNANT CELLS AS THE WAY TO THE PERSONALIZATION OF LEUKEMIA TREATMENT

Preclinical drug sensitivity estimation of leukemia cells is of special significance for adequate patient treatment and its individualization.

Key words: leukemia, drugs, cell sensitivity *ex vivo*, response to treatment.

Формирование лекарственной резистентности лейкозных клеток является основной причиной неэффективности ответа пациентов с опухолевыми заболеваниями кроветворной ткани на терапию, которая оказывается неадекватной лекарственной чувствительности клеток. В таких случаях именно соответствие чувствительности клеток и конкретной цитостатической терапии в значительной степени определяет ее эффективность [Свирновский, 2011, с. 31; Weisburg, 2008, p. 1405].

Проблема преодоления феномена множественной лекарственной устойчивости, т.е. первичной либо приобретенной устойчивости к ряду несхожих по структуре и механизмам действия терапевтическим воздействиям, тесно связана с выбором стратегии лечения онкогематологических больных [Свирновский, 2014, с. 6].

Учитывая гетерогенность патофизиологических механизмов, обусловливающих развитие лейкозов, механизмов резистентности к терапии, даже не говоря о значительных колебаниях индивидуальной чувствительности опухолевых клеток к лекарственным препаратам, трудно выбрать оптимальную схему лечения отдельного пациента, основываясь на эмпирических фактах или статистических данных об эффективности терапии «среднего» пациента.

Идеология персонализации терапии этих заболеваний встречается с определенными ограничениями, если при этом непосредственно не оценивается лекарственная чувствительность лейкозных клеток одновременно с использованием таргетной терапии [Свирновский, 2010, с. 57–59; Rosland, 2015, p. 9]. Дело в том, что множественная лекарственная резистентность к противоопухолевой терапии на клеточном уровне определяется не одним, а многими факторами [Solvanik, 2010, p. 5–9], в частности мутацией или амплификацией ряда генов и их полиморфизмом, а также эпигенетическими изменениями [Шман, 2002, с. 8–10], активностью систем биотрансформации и конъюгации ксенобиотиков [Svirnovski, 2009, p. 204–212] и систем репарации ДНК [Montserrat, 2006, p. 279–284]. Эти факторы в совокупности влияют на проникновение химических соединений в клетку, их распределение в ней и выведение.

Общая стратегия химиотерапии, направленная на выбор схем или отдельных лекарственных средств на основе различных прогностических признаков, должна включать в себя и непосредственное определение лекарственной устойчивости лейкозных клеток и, соответственно, выявлять потенциально лекарственно-устойчивых пациентов, что может иметь не только клиническое, но и экономическое значение. Постановка тестов *ex vivo* перед началом каждого курса может уменьшить токсические эффекты и стоимость терапии за счет исключения препаратов, к которым развилась невосприимчивость. Развитие этого направления исследований связано, прежде всего, с необходимостью обоснования целесообразности индивидуализации типовой и риск-адаптированной терапии для конкретного пациента, а также с разработкой системы, обеспечивающей преклиническую диагностику лекарственной чувствительности опухолевых клеток [Verma, 2012, p. 1–3].

На основе изучения ферментов биотрансформации и транспортеров лекарственных препаратов, молекулярно-генетических предикторов ответа на терапию в настоящее время стал возможным более обоснованный выбор терапии, однако такие маркеры в полной мере не могут характеризовать ответ на конкретный набор химиопрепаратов, используемый для терапии онкогематологических заболеваний. Особый прогностический и терапевтический смысл приобретает возможность выполнения относительно неинвазивных исследований для выделения объектов из организма, анализ которых *ex vivo* позволяет осуществить выбор индивидуализированной терапии и предсказать ответ на нее, даже при учете возможных различий в ответе опухолевых клеток на лекарственные средства в организме и вне его

[Kaspers, 2005, p. 49–57; Matutes, 2013, p. 507–509]. При опухолевых заболеваниях кроветворной ткани такая возможность является вполне реальной в случае выделения из организма патологических клеток, которые составляют морфологический субстрат заболевания, для определения их чувствительности к противоопухолевым лекарственным средствам до назначения пациенту лечения. Разработано множество методов детекции чувствительности клеток к лекарственным препаратам *in vitro*, базирующихся на регистрации снижения клоногенной, пролиферативной и ферментативной активности лейкозных клеток при действии химиопрепаратов. Однако эти методы недостаточно эффективны, быстры и надежны в качестве способа определения лекарственной чувствительности лейкозных клеток, часто требуют больших временных и материальных затрат. Этим объясняется необходимость разработки менее трудоемкого, но достаточно информативного скринингового метода доклинической диагностики лекарственной чувствительности опухолевых клеток кроветворной ткани.

Взаимосвязь между клиническим ответом при терапии и лекарственной резистентностью *ex vivo* показана при использовании для определения лекарственной чувствительностью МТТ-теста. Метод основан на способности митохондриальных дегидрогеназ живых клеток конвертировать растворимую тетразолиевую соль 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенил тетразолиум бромид (МТТ) в нерастворимый формазан. Данный тест получил широкое применение в лабораторной практике для определения чувствительности клеток к действию цитостатиков из-за своей относительно низкой стоимости и высокой эффективности [Владимирская, 2002, с. 4; Escherich, 2011, p. 854–856]. МТТ-тест является интегральным тестом, поскольку на основе его результатов можно предсказать конечный эффект цитотоксичности доминантной опухолевой популяции клеток независимо от механизма лекарственной устойчивости [Stute, 1999, p. 446].

Нами показано, что информацию о химиочувствительности лейкозных клеток можно получить не только при анализе чувствительности клеток к ряду разведений лекарственного средства, но и при использовании *in vitro* только одной концентрации лекарственного средства (модифицированный тест), а именно близкой к терапевтической дозе в крови [Свирновский, 2011, с. 97–100]. Кроме того, на основании полученных клинических данных установлено, что чувствительность и специфичность исследования составили соответственно 83 и 80%, а положительная прогностическая ценность — 98%. Наши результаты хорошо согласуются с данными метаанализа эффективности терапии лейкозов и лимфом почти 2000 пациентов, в основе которого лежит сопоставление частоты клинического ответа в группах, которые получали терапию, адекватную индивидуальной лекарственной чувствительности клеток *ex vivo*, и терапию препаратами, к которым клетки были резистентны [Свирновский, 2012, с. 11–12].

Таким образом, количественное определение жизнеспособности лейкозных клеток *in vitro* важно для сравнительной оценки противолейкозной активности лекарственных средств, а представление о чувствительность-адаптированной терапии при внедрении ее в практику клинической лейкозологии расширяет возможности персонифицированной терапии вследствие доступности выбора лекарственных средств и их сочетаний. Все это является адекватным основанием принятия решения о выборе тактики терапии в конкретных условиях, так как эффективность чувствительность-адаптированной терапии при лейкозах и лимфомах гораздо выше, чем терапии, назначаемой без учета лекарственной чувствительности. Кроме того, мониторинг лекарственной чувствительности лейкозных клеток, препятствуя ненадлежащему использованию дорогостоящих лекарственных препаратов, кото-

рые в случае нечувствительности к ним клеток вызывают лишь неоправданные токсические эффекты, может способствовать созданию индивидуальных протоколов спасения, а также разработке принципиально новых протоколов терапии.

Библиографический список

Владимирская Е.Б., Астрелина Т.А., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Анализ чувствительности лейкемических клеток к химиопрепаратам при остром лимфобластном лейкозе у детей по результатам МТТ-теста *ex vivo* // Гематология и трансфузиология. 2002. №4. С. 3–7.

Свирновский А.И. Таргетная терапия и клоновая эволюция при опухолевых заболеваниях кроветворной ткани // Медицинские новости. 2014. №9. С. 6–11.

Свирновский А.И. Методология исследования лекарственной чувствительности лейкозных клеток // Медицина. 2013. №1. С. 61–63.

Свирновский А.И. Резистентность опухолевых клеток к терапевтическим воздействиям как медико-биологическая проблема // Медицинские новости. 2011. №9. С.30–38.

Свирновский А.И., Сергиенко Т.В., Пасюков В.В. Разработка принципов создания диагностического набора для определения лекарственной чувствительности лейкозных клеток // Проблемы здоровья и экологии. 2011. №3 (29). С. 94–100.

Свирновский А.И., Сергиенко Т.Ф., Смирнова Л.А., Пасюков В.В. Лекарственная чувствительность лейкозных клеток *ex vivo* и прогнозирование ответа пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом на терапию // Здравоохранение. 2010. №3. С. 57–60.

Шман Т.В., Углова Т.А., Савицкий В.П. Связь лекарственной чувствительности и спонтанного апоптоза лейкемических клеток с факторами прогноза при В-линейном остром лимфобластном лейкозе у детей // Гематология и трансфузиология. 2002. Т. 47, №4. С. 8–10.

Escherich G., Tröger A., Göbel U., Graubner U., Pekrun A., Jorch N., Kaspers G., Zimmermann M, zur Stadt U., Kazemier K., Pieters R., Den Boer M., Horstmann M., Janka G. The Long-Term Impact of in vitro Drug Sensitivity on Risk Stratification and Treatment Outcome in Acute Lymphoblastic Leukemia of Childhood (CoALL 06-97) // Haematologica. 2011. V. 96. №6. P. 854–862.

Kaspers G.J. Use of the Differential Staining Cytotoxicity Assay to Predict Chemosensitivity // Methods in molecular medicine. 2005. V. 110. P. 49–57.

Matutes E., Bosanquet A., Wade R., Richards M., Else M., Catovsky D. The Use of Individualized Tumor Response Testing in Treatment Selection: Second Randomization Results from the LRF CLL4 Trial and the Predictive Value of the Test At Trial Entry // Leukemia. 2013. V. 27. №2. P. 507–510.

Montserrat E. New Prognostic Markers in CLL // Hematology (ASH). 2006. P. 279–284.

Rosland G., Svendsen A., Engelsen T. Novel Points of Attack for Targeted Cancer Therapy // Basic clinical Pharmacology and Toxicology. 2015. V. 116. №1. P. 9–18.

Solvanik G.I. Multifactorial Nature of Tumor Drug Resistance // Experimental Oncology. 2010. V. 32, №3. P. 5–9.

Stute N., Köhler T., Lehmann L., Wetzstein W., Ehninger G. Drug Resistance Testing of Acute Myeloid Leukemia in Adults Using the MTT Assay // Advances in Experimental Medicine and Biology. 1999. V. 457. P. 445–452.

Svirnovski A.I., Shman T.V., Serhiyenka T.F., Savitski V.P., Smolnikova V.V., Fedasenka U.U. ABCB1 And ABCG2 Proteins. Their Functional Activity and Gene Expression In Concert with Drug Sensitivity of Leukemia Cells // Hematology. 2009. V. 14, №4. P. 204–212.

Svirnovski A.I., Serhiyenka T.F., Kustanovich A.M., Khlebko P.V., Fedosenko V.V., Taras I.B., Bakun A.V. DNA-PK, ATM and MDR Proteins Inhibitors in Overcoming Fludarabine Resistance in CLL Cells // Experimental Oncology. 2010. V. 32, №4. P. 258–262.

Verma M. Personalized Medicine and Cancer // Journal of Personal Medicine. 2012. V. 2, №1. P. 1–14.

Weisburg J. Multidrug Resistance in Acute Myeloid Leukemia: Potential New Therapeutics // The Journal of Nuclear Medicine. 2008. V. 49, №9. P. 1405–1407.

УДК 615.32:615.811.2:616.8

И.В. Семёнов[1], Е.В. Макарова[1,2]

[1]Центр экологических и оздоровительных технологий (Барнаул, Россия),
[2]Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ НООТРОПНОГО ГЕЛЕВОГО КОМПЛЕКСА В КОНТЕКСТЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОРМЫ ПРЕПАРАТА*

Показаны механизмы действия гелевого биокомплекса на основе экстрактов ноотропных растений Сибири и медицинской пиявки в контексте физико-химических свойств формы препарата. Описана взаимосвязь гелевой структуры с механизмами трансдермального переноса биологически активных веществ, гидравлическими и тиксотропическими процессами, нейротрофическими факторами.

Ключевые слова: ЦНС, нейротрофические факторы, ноотропный гель, полимер, циркуляторная система, нейродегенеративные расстройства.

I.V. Semyonov[1], E.V. Makarova[1,2]

[1]Center for Environmental and health technologies (Barnaul, Russia),
[2]Altai State University (Barnaul, Russia)

ACTION MECHANISMS OF NOOTROPIC GEL COMPLEX IN THE CONTEXT OF PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF THE REMEDY FORM

The article presents the action mechanisms of the gel biocomplex based on Siberian nootropic herbs and the medicinal leech in the context of physical and chemical properties of the remedy form. The correlation of gel structure with mechanisms of transdermal transfer of biologically active agents, hydraulic and thixotropic processes, neurotrophic factors is described.

Key words: CNS, neurotrophic factors, nootropic gel, polymer, circuit system, neurodegenerative disorders.

Для решения задач профилактики и коррекции соматоформных и нейродегенеративных расстройств врачом-нейрофизиологом И.В. Семеновым разработан гелевый биокомплекс Noobionic. Главный источник биологически активных веществ (БАВ) геля — высокоактивный комплекс экстрактов ноотропных растений Сибири и медицинской пиявки. Однако механизмы действия данного геля обусловлены не только БАВ, входящими в его состав, но и, во многом, физико-химическими свойствами формы препарата и способом его применения — путем ежедневного нанесения на кожу лица и шеи. Гелевая форма биокомплекса определяет стабильность и кинетику инкорпорированных в гелевую основу ВАБ и характеризуется отсутствием явлений физической и химической несовместимости в их отношении, обеспечивает стабильность физико-химических свойств в процессе изготовления и при хранении, а главное — способность в заданных пределах высвобождать включенные БАВ без потерь (например, без расщепления в желудочно-кишечном тракте).

Гель является высокотехнологичным, сложно устроенным продуктом. Физически он представляет собой объемное переплетение полимерных нитей, наноразмерные пространства между которыми заполнены водным раствором, содержащим биологически активные вещества ноотропных растений и пиявочного секрета. Это своеобразный нанокапиллярный контейнер, который обеспечивает защиту раствора от вредного влияния компонентов атмосферного воздуха, ультрафиолетовых лу-

* Исследование осуществляется при поддержке ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (договор №231ГС1/8742).

чей, влаги, микроорганизмов и т.д. Это обеспечивает сохранность раствора в течение длительного времени.

Важно, что размерность капилляров и их точек выхода на гелевую поверхность (пор) совпадает с размерностью наноканалов, начинающихся от поверхности кожи, пронизывающих всю ее толщу и связанных с подобными каналами прилегающих тканей. При нанесении геля на кожу происходит совмещение каналов кожной поверхности и пор геля. Это обеспечивает быстрое и без потерь всасывание ноотропного раствора из геля в кожные и подкожные межклеточные пространства.

Физически такое «перекачивание» обеспечивается силами капиллярного всасывания. Химически оно обусловлено тем, что все вещества в растворе движутся по закону концентрации — от большей концентрации к меньшей. Поэтому биологически активные вещества, попав из геля в кожную наноканальную систему, начинают по ней самостоятельно диффузно распространяться. Это обеспечивает попадание БАВ не только в прилегающие к коже ткани, но и в далеко расположенные ткани и органы, включая головной мозг. Результаты исследований экстракта медицинской пиявки свидетельствуют о его высокой биологической активности, которая предопределяет возможности его функционального использования в доставке собственных БАВ и веществ из фитоэкстрактов в клетки организма, обеспечении энергией процессов, происходящих в клетке, регулировании метаболических процессов [Гирудотерапия и гирудофармакотерапия, 1986].

Вторым фактором, обеспечивающим проникновение компонентов геля в ткани, является сходство структуры геля с межклеточным веществом, которое тоже представляет собой гель на основе воды — гидрогель. Этим обусловлено совпадение диаметров капилляров (наноканалов) и транспортных характеристик геля и межклеточного пространства.

Третьим фактором является гидравлическое действие геля. Столбики жидкости с растворенными БАВ, попадая из капилляров геля в межклеточные пространства, своим гидравлическим давлением разделяют слипшиеся полимерные нити тканевого гидрогеля (межклеточного вещества). Это способствует увеличению его водной насыщенности и объема. В итоге появляются новые транспортные каналы доставки питательных веществ. Существенно, что внешне такое увеличение тканевого объема проявляется в расправлении кожи, увеличении ее упругости и разглаживании.

Важно и то, что после опорожнения гелевой сетки она образует на коже тонкую полупроницаемую пленку, которая позволяет коже «дышать» и не препятствует кожному выделению. Также эта пленка за счет собственной эластики обладает массажным и влагоудерживающим действием. Это оказывает благоприятное влияние на циркуляцию крови, лимфы и тканевой жидкости, оказывает противоотечное действие и способствует распространению БАВ по коже, прилегающим тканям и организму. За счет своих тиксотропических свойств пленка позволяет также восстанавливать ткани после механических повреждений.

БАВ введены в состав гелевого биокомплекса в малых дозах, что обусловлено доказанными эффектами на клетки и ткани организма при отсутствии токсических реакций [Ямскова, Ямсков, 1999].

Действие геля Noobionic, обусловленное физико-химическими свойствами формы препарата, осуществляется несколькими путями.

1. Улучшение трофического состояния кожи лица сопровождается активацией импульсов от кожных рецепторов в центральную нервную систему. Это положительно влияет на мозговую активность.

2. Улучшение состояния мимической мускулатуры улучшает работу мозга, в частности памяти. Это обеспечивается тем, что а) возрастает мышечная актив-

ность и приток импульсов в центральную нервную систему; б) увеличивается трофическое влияние самих мышц на нейроны и мозг в целом; в) происходит улучшение внутричерепного давления, артериального притока и венозного оттока из полости черепа (от мозга), что обеспечивается работой мышц как тканевых насосов, «прокачивающих» кровь, лимфу и межклеточную жидкость. Анатомической основой этого влияния является прямая связь сосудисто-капиллярной, лимфатической и межклеточной циркуляторной системы тканей лица, головы и шеи с головным мозгом.

3. Улучшение состояния нервной системы лица (кожных нейронов, нервных узлов, лицевого, тройничного и вегетативных нервов, синапсов) тоже оказывает положительное действие на центральную нервную систему. Это происходит благодаря качественному улучшению первичной обработки сенсорной информации от кожных рецепторов и количественному возрастанию импульсных потоков в мозг.

4. Биологические активные вещества геля, всосавшись в кожу и подкожные ткани, попадают в мозг с током крови, по лимфатической системе и по каналам циркуляции тканевой (межклеточной) жидкости. Они улучшают кровоснабжение мозга и работу нервных клеток.

Механизм воздействия геля Noobionic на активность нейронов происходит следующими несколькими путями.

Прямое действие на внутриклеточные процессы: 1) улучшается нейроэнергетика путем ускорения синтеза, увеличения запасов и ускорение оборота мозговых энергетических молекул (АТФ и др.); 2) антигипоксическое действие — улучшение утилизации (усвоения) кислорода нервными и другими клетками мозга; 3) антиоксидантное действие — нейтрализация и препятствие накоплению свободных радикалов и других агрессивных молекул; 4) оптимизация внутриклеточных обменных (метаболических) процессов; 5) ускоренное удаление продуктов обмена; 6) защитное, нейропротективное действие — защита клеток мозга от действия попавших в него токсинов, алкоголя, вредных компонентов атмосферы, воды, пищевых продуктов и т.п., а также от избыточной импульсной активности и повышенных концентраций собственных веществ организма.

Улучшение активности внутримозговых нервных волокон (связывающих все нервные клетки и отделы мозга между собой): 1) улучшается проводимость нервных импульсов — ускоряется циркуляция информации в центральной нервной системе; 2) улучшается состояние миелиновой оболочки нервных проводников (она проводит нервные импульсы); 3) улучшается кровоснабжение и питание клеток, синтезирующих миелиновую оболочку и поддерживающих структуру внутримозговых нервных волокон.

Улучшение синаптической активности: 1) обеспечивается структурная целостность синапсов и их функциональная активность; 2) облегчается сама синаптическая передача; 3) улучшается процесс образования новых синапсов.

Улучшение кровоснабжения нервных клеток: 1) положительно влияя на кровь, биологически активные вещества геля улучшают ее реологические (текучие) и другие свойства; 2) положительное действие на стенки кровеносных сосудов (эндотелий, гладкомышечные и другие клетки); 3) ускоряется поступление питательных веществ из крови в ткани мозга.

Библиографический список

Баскова И.П. Биологически активные вещества, продуцируемые медицинской пиявкой, и механизмы их действия : дис. … д-ра биол. наук. М., 1986.

Баскова И.П., Никонов Г.И., Миркамалова Э.Г., Зинченко В.В., Козлова Л.В. Влияние препарата из медицинских пиявок на фагоцитоз и систему комплемента // Казанский мед. журнал. 1988. Т. 69, №5. С. 334–336.

Венгеровский А.И., Суслов Н.И., Кайгородцев А.В. Влияние экстракта лабазника обыкновенного на биоэнергетику головного мозга при экспериментальной постгипоксической энцефалопатии // Бюл. эксперимен. биологии и медицины. 2011. Т. 151, №4. С. 401–405.

Гирудотерапия и гирудофармакотерапия / под ред. Г.И. Никонова. М., 1996.

Дамдинова Г.Х. Ноотропное действие экстракта шлемника байкальского : автореф. дис. … канд. мед. наук. Улан-Удэ, 2001.

Емельянов С.А. Психотропные свойства экстракта бадана толстолистного : автореф. дис. … канд. биол. наук. Томск, 1993.

Крашенюк А.И., Крашенюк С.В., Чалисова Н.И. Нейротрофический фактор Hirudo medicinalis (пиявки медицинской) // Гирудология-97 : материалы Пятой науч.-практ. конф. Ассоциации гирудологов России. СПб., 1997. С. 90–94.

Танашян М.М., Кистенев Б.А., Гераскина Л.А., Поворинская Т.Э. Использование пиявита при цереброваскулярных заболеваниях // Гирудология-97 : материалы Пятой науч.-практ. конф. Ассоциации гирудологов России. СПб., 1997. С. 76–77.

Шилова И.В., Суслов Н.И., Самылина И.А. Химический состав и ноотропная активность растений Сибири. Томск, 2010.

Ямскова В.П., Ямсков И.А. Механизм биологического действия физико-химических факторов в сверхмалых дозах // Российский химический журнал ЖРХО им. Д.И. Менделеева. 1999. Т. 43, №2. С. 74–79.

УДК 615.32: 615.811.2: 616.8

И.В. Семёнов[1], Б.И. Козлов[2]

[1]Центр экологических и оздоровительных технологий (Барнаул, Россия),

[2]Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул, Россия)

О НЕКОТОРЫХ ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫХ ЭФФЕКТАХ БИОКОМПЛЕКСА НООТРОПНЫХ РАСТЕНИЙ СИБИРИ И МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ*

Приводятся данные исследований гелевого биокомплекса Noobionic на основе ноотропных растений Сибири и медицинской пиявки. Показано положительное действие геля на функции центральной нервной и сердечно-сосудистой систем, динамика иммунного статуса и антиоксидантного потенциала, реологических параметров крови, когнитивных функций и показателей качества жизни. Приведенные данные определяют возможность применения геля для функционального восстановления после перенесенных психотравмирующих состояний, профилактики стресс-индуцированных заболеваний (в том числе нейродегенеративных) и соматоформных расстройств.

Ключевые слова: ЦНС, когнитивные функции, медицинская пиявка, ноотропные растения Сибири, нейродегенеративные заболевания.

I.V. Semyonov[1], B.I. Kozlov[2]

[1]Center for Environmental and health technologies (Barnaul, Russia),

[2]Altai State Medical University (Barnaul, Russia)

SOME HEALTH EFFECTS FROM BIOCOMPLEX OF THE SIBERIAN NOOTROPIC PLANTS AND A MEDICAL LEECH

The article contains data of researches of the gel Noobionic — biocomplex on the basis of nootropic plants of Siberia and a medical leech. It shows positive action from gel on function of cardiovascular and central nervous system, the dynamics of the immune status and

* Исследование осуществляется при поддержке ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (договор №231ГС1/8742).

antioxidant potential, rheological parameters of blood, cognitive function and quality of life. These data define the possibility of using the gel for functional recovery after traumatic states, for the prevention of stress-induced diseases (including neurodegenerative) and somatoform disorders.

Key words: CNS, cognitive functions, medical leech, nootropic plants of Siberia, neurodegenerate diseases.

Проблема астенических и астенодепрессивных состояний, нейродегенеративных заболеваний является одной из фундаментальных в медицине. Это объясняется стремительным ростом данных расстройств и их связью с ослаблением высшей нервной деятельности, нарушением стабильности функционирования вегетативной нервной системы и прочих систем организма. В целях профилактики и восстановления после подобных расстройств врачом-нейрофизиологом И.В. Семеновым разработан гелевый биокомплекс Noobionic на основе ноотропных растений Сибири и экстракта медицинской пиявки.

Действие геля определяется его составом, физико-химической структурой и методом применения. Наука последнего десятилетия открыла исключительные ноотропные свойства лекарственных растений Сибири [Барнаулов, 2008; Шилова и др., 2010; Шилова и др., 2013]. Входящие в состав геля фитоэкстракты регулируют нейрометаболические процессы, улучшая энергетическое состояние нейронов, активируя пластические процессы в ЦНС за счет усиления синтеза РНК и белков, улучшая процессы синаптической передачи в ЦНС, оказывая мембраностабилизирующее действие. Кроме улучшения нейроэнергетики, они также обладают мощным и научно доказанным антиоксидантным действием и способностью улучшать мозговой метаболизм. Поэтому они прямо показаны при перегрузке в качестве адаптогена. Экстракт медицинской пиявки включен в биокомплекс в форме лекарственного препарата «Пиявит», созданного под научным руководством ведущего научного сотрудника биологического факультета МГУ, доктора биологических наук, профессора И.П. Басковой. Научно доказано, что «Пиявит» улучшает память, увеличивает плотность капилляров в мозге, улучшает мозговое кровообращение и метаболические процессы в нервной ткани (исследования Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН) [Баскова и др., 2011 и др.]. Результаты исследований свидетельствуют о его высокой биологической активности, которая предопределяет возможности его функционального использования в доставке биологически-активных веществ (БАВ) в клетки организма, регулировании метаболических процессов в клетке.

Гель предназначен для нанесения на кожу лица и шеи, трансдермальная доставка БАВ позволяет избежать их разрушения в ЖКТ, а также дает возможность использования геля для реабилитации лиц с нарушенной функцией глотания (например, при постинсультных параличах и парезах, ДЦП, неврологических патологиях), при других обстоятельствах, затрудняющих прием оздоровительных средств перорально (например, при аутизме, у лиц детского и пожилого возраста).

Физико-химическая структура геля идентична межклеточному веществу, а размеры полимерных каналов геля совпадают с размерами пор и капилляров, что обеспечивает оптимальный перенос раствора БАВ в кожные и подкожные межклеточные пространства, в ткани и органы, включая головной мозг. С кровотоком, по лимфатической системе и по каналам циркуляции тканевой жидкости ноотропные вещества растений и пиявки преодолевают гематоэнцефалический барьер, налаживают кровоснабжение головного мозга, насыщают его кислородом, оптимизируют обменные процессы и обеспечивают необходимой энергией, нейтрализуют свободные

радикалы и выводят токсины, регулируют работу нервных клеток и защищают их. В результате улучшается проводимость нервных импульсов, ускоряется циркуляция информации в ЦНС, а это регулирует не только умственную деятельность, но и работу всего организма как сложной, управляемой мозгом системы. Под действием геля также улучшается состояние кожи и мускулатуры лица, а сосудистая, лимфатическая и межклеточная циркуляторная система тканей лица, головы и шеи напрямую связана с головным мозгом. В результате возрастает мышечная активность и приток импульсов в центральную нервную систему. Это позволяет регулировать внутричерепное давление, артериальный приток и венозный отток из полости черепа.

Испытания биокомплекса ведутся И.В. Семеновым с 2011 г., с 2014 г. исследования поддержаны ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере». Результаты компьютерного анализа ЭЭГ лиц, применявших гель не менее одного месяца, свидетельствуют об улучшении амплитудной и процентной мощности ритмов и частотных промежутков, а также о регулировании функции когерентности, отражающей скорость циркуляции импульсов по белому веществу мозга [Семенов, 2015].

На базе ФГБУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» под руководством доктора медицинских наук, профессора Б.И. Козлова проведены клинико-лабораторные исследования геля Noobionic в качестве оздоровительного средства у пациентов в стадии реконвалесценции после перенесенных обострений хронических неинфекционных заболеваний при наличии астеновегетативного синдрома. Исследование осуществлено методом непосредственного клинического обследования пациентов на протяжении 30-дневного периода. Проведена оценка показателей общего анализа крови и биохимических показателей, оксидантно-антиоксидантного статуса, определение показателей гемостаза, выраженность астеновегетативного синдрома (оценивалась по MFI 20). В качестве теста, объединявшего физические, психические, эмоциональные и социальные характеристики, использована анкета САН (самочувствие, активность, настроение). Для оценки степени выраженности депрессии использована шкала Гамильтона, а также применены психометрические тесты: тест на цифровую последовательность, тест Мюнстерберга, тест для оценки памяти с 20 словами. Для оценки эффективности и переносимости геля наряду с опросом, общим анализом крови и мочи, биохимическими исследованиями использована оценка тонуса вегетативной нервной системы по индексу Кердо.

К окончанию срока исследования отмечена *стабильность функционирования показателей сердечно-сосудистой системы*, оцениваемая на основании клинической симптоматики, показателей АД, ЧСС. Значения тест-индекса Кердо были положительны в 58,6% в основной группе, что говорит в пользу преобладающего *симпатического влияния вегетативной нервной системы*. Изменения тест-индекса в пределах +4 условных единицы свидетельствуют об адекватной реакции организма на воздействие геля Noobionic.

Выраженность психической астении снизилась на 10,2% ($p < 0,05$) по отношению к исходным данным. При этом проявления психической астении в основной группе были меньше к концу исследования, чем в группе сравнения на аналогичный процент ($p < 0,05$).

Уровень тревоги у испытуемых на начало исследования достигал средней степени выраженности и в суммарном выражении в среднем составлял 9 баллов. Этот показатель обеспечивался преимущественно за счет повышения значений по субшкалам: а) тревожное настроение, б) инсомния, в) интеллектуальные нарушения, г) депрессивное настроение; д) вегетативные симптомы. К завершению исследования отмечено, что по субшкале «инсомния» наблюдалась положительная статистиче-

ски значимая ($p < 0,05$) динамика состояния испытуемых, выразившаяся в том, что эпизоды затрудненного засыпания, прерывистого сна, не приносящего отдыха, чувства разбитости и слабости при пробуждении, сна с кошмарами сократились в группе использовавших гель Noobionic по отношению к группе сравнения в 6,2 раза. Также отмечено, что имелись статистически значимые различия ($p < 0,05$) по субшкале «вегетативные симптомы»: число пациентов с покраснением или бледностью кожных покровов, сухостью во рту, потливостью, головными болями в основной группе сократилось в 1,9 раза. Аналогичная ситуация наблюдалась при оценке субшкалы «тревожное настроение», когда число наблюдаемых с раздражительностью, озабоченностью уменьшилось в 4,6 раза ($p < 0,05$). Сравнительный анализ по пунктам шкалы Гамильтона (HDRS) показал положительную статистически значимую динамику по субшкале «инсомния» (сокращение числа наблюдаемых к завершению исследования в 7,0 раз), субшкале «вегетативные симптомы» в 2,2 раза ($p < 0,05$), субшкале «тревожное настроение» в 5,3 раза ($p < 0,05$).

Анализ полученных данных о способности воздействия геля Noobionic на результаты психометрического тестирования памяти и внимания свидетельствует о положительном влиянии регулярного приема исследуемого продукта на *способность к запоминанию текстовой информации*. Так, результаты проведенного теста «20 слов» показали статистически значимое увеличение числа правильно воспроизводимых слов после двух и более повторений по сравнению с исходными значениями: на 11,0, 25,7, 13,1 и 8,0% после 2-го, 3-го, 4-го и 5-го повторений соответственно ($p < 0,05$). Одновременно в группе сравнения статистически значимых изменений этих же показателей не выявлялось.

Регулярное применение исследуемого биокомплекса *способствует увеличению способности к концентрации внимания* (общее время выполнения теста на цифровую последовательность в основной группе снизилось по сравнению с исходным значением на 22,0% ($p < 0,05$)). В группе сравнения статистически значимых различий к окончанию срока исследования не выявлено.

По результатам оценки *избирательности внимания* в тесте Мюнстерберга общее время выполнения теста снизилось на 12,0%, а количество пропущенных слов снизилось на 72,0%. В группе сравнения статистически значимых различий по этим показателям не выявлено.

Установлено значимое *увеличение общей антиоксидантной активности* плазмы и эритроцитов крови, содержания супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в эритроцитах. При этом применение исследуемого биокомплекса не влияло на содержание каталазы в эритроцитах.

Показатели гемостаза (коагулограмма) свидетельствуют, что произошло достоверное *изменение активированного тромбопластинового времени*. Так, его рост составил 6,1 с ($p < 0,05$) при разнице с группой сравнения 8,9 с ($p < 0,05$). Также отмечены статистически значимые различия по оценке растворимых фибринмономерных комплексов. В группе пациентов, использовавших гель Noobionic, отмечено их снижение содержания в плазме крови на 0,6 мг/мл ($p < 0,05$), что привело к более низкому уровню (на 0,5 мг/мл, $p < 0,05$), чем в сравнительной группе. При изучении показателя агрегации тромбоцитов в основной группе выявлено повышение агрегации на 4,1 с ($p < 0,05$), при отсутствии изменений в группе сравнения и соответственно разнице показателей на 3,2 с ($p < 0,05$).

При оценке по методике САН психического состояния больных и здоровых лиц и психоэмоциональной реакции на нагрузку произошло выраженное (статистически значимое) *улучшение показателей качества жизни* испытуемых по шкалам «*Самочувствие*» на 57%, «*Настроение*» на 61%, «*Активность*» на 41%.

Данные факты свидетельствуют о тонизирующем влиянии исследуемого биокомплекса на организм с улучшением функциональных возможностей центральной нервной системы. Это открывает возможности применения геля Noobionic как средства профилактики и коррекции соматоформных и нейродегенеративных расстройств.

Библиографический список

Барнаулов О.Д. Фармакологические свойства растений-церебропротекторов, перспективных для лечения больных рассеянным склерозом. Семейство шикшевые Empetraceae // Нейроиммунология: Исследования. Клиника. Диагностика. Лечение. 2008. Т. VI, №1-2. С. 33–42.

Баскова И.П., Воеводина Е.Б., Логинова Н.А., Мац В.Н., Пасикова Н.В., Тушмалова Н.А. Анализ влияния биологически активного соединения природного происхождения Пиявит на условнорефлекторную память, нейроно-глиальные соотношения гиппокампа и неокортекса мозга крыс // Вестник Московского университета. Сер. : Биология. 2011. №4. С. 3–8.

Семенов И.В. и др. Пиявит в составе геля, наносимого на кожу головы, улучшает функции центральной нервной системы человека // Научные основы гирудотерапии. Гуморальное звено. М., 2015. С. 167–188.

Шилова И.В., Суслов Н.И., Самылина И.А. Химический состав и ноотропная активность растений Сибири. Томск, 2010. 236 с.

Шилова И.В., Самылина И.А., Суслов Н.И. Разработка ноотропных средств на основе растений Сибири. Томск, 2013. 268 с.

УДК 577.15:661.722.2

Е.А. Скиба, В.В. Будаева, О.В. Байбакова, Е.И. Макарова,
И.Н. Павлов, В.Н. Золотухин, Ю.А. Крюков
Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

ПОЛУЧЕНИЕ БИОЭТАНОЛА ИЗ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА НА ОПЫТНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ ИПХЭТ СО РАН

Технология биоэтанола апробирована на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН, использовано стандартное емкостное оборудование. Масштабирован по объему полный цикл получения биоэтанола от сырья до готового продукта. Биоэтанол синтезирован из плодовых оболочек овса с выходом 12,4 дал/т.

Ключевые слова: плодовые оболочки овса, ферментативный гидролиз, спиртовое брожение, биоэтанол, масштабирование.

E.A. Skiba, V.V. Budaeva, O.V. Baibakova, E.I. Makarova,
I.N. Pavlov, V.N. Zolotukhin, Yu.A. Kryukov
Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

BIOETHANOL PRODUCTION FROM OAT HULLS AT IPCET SB RAS PILOT FACILITY

The bioethanol technology has been proven at the IPCET SB RAS pilot facility using standard capacitive equipment. The total cycle ofbioethanol production, from the feedstock to the final product, has been scaled up by volume. Bioethanol was synthesized from oat hulls in a yield of 12,4 dal per ton.

Key words:oat hulls, enzymatic hydrolysis, yeast fermentation, bioethanol, scaling-up.

В Институте проблем химико-энергетических технологий (ИПХЭТ) СО РАН разработана технология получения биоэтанола из плодовых оболочек овса (ПОО), включающая полный цикл: сырье → предварительная химическая обработка → суб-

страт → ферментативный гидролиз → спиртовое брожение → выделение биоэтанола из бражки → концентрирование биоэтанола. Технология отработана в лабораторных условиях, найдены оптимальные режимы на каждой технологические стадии [Скиба, 2013, с. 202–205]. В данную работу включены результаты масштабирования полного цикла на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН. Использовано стандартное емкостное оборудование.

Предварительная химическая обработка заключалась в обработке ПОО разбавленным раствором гидроксида натрия при температуре 90–92 °С в одну стадию согласно нормативно-технической документации (НТД) ТП 10018691.01101.00072 «Технологическая пропись получения технической целлюлозы из плодовых оболочек овса комбинированным способом».

Биоконверсия полученного субстрата в биоэтанол осуществлялась согласно ТП 10018691.01101.00071 «Технологическая пропись получения биоэтанола из мискантуса и плодовых оболочек овса». Ферментативный гидролиз проводился в водной среде в емкостном оборудовании объемом 63 л, при этом уровень активной кислотности поддерживался вручную в диапазоне 4,7–5,1 путем добавления растворов ортофосфорной кислоты и аммиака. Концентрация субстрата — 60 г/л в пересчете на абсолютно сухое вещество. Промышленно доступные ферментные препараты «Брюзайм BGX» и «Целлолюкс-А» были внесены в избытке. Температура ферментативного гидролиза составила 46,5–47 °С, продолжительность — 32 ч, после этого среду охлаждали до 28 °С, вносили засевные дрожжи и в течение последующих 45 ч проводили спиртовое брожение, совмещенное с ферментативным гидролизом, активная кислотность поддерживалась вручную на уровне 4,7–5,1.

Сбраживание осуществляли с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (Москва). Дрожжи для сбраживания подготовлены следующим образом: чистая культура была пересеяна на среду неохмеленного солодового сусла в количестве 5% к объему среды, культивирование проводилось одни сутки при температуре 28 °С; затем эти дрожжи в количестве 5% были перенесены на среду, состоящую из ферментативного гидролизата и неохмеленного солодового сусла в соотношении 2 : 1, культивирование проводилось одни сутки при температуре 28 °С. Полученные дрожжи в дозировке 12% внесены как инокулят в ферментативный гидролизат, полученный на опытном производстве, общее количество клеток составило 93 млн КОЕ/мл.

Концентрацию сахаров в пересчете на глюкозу определялась спектрофотометрически. Выход редуцирующих веществ (РВ) рассчитан как отношение массы РВ к массе субстрата. Крепость бражек (объемная доля спирта) определялась ареометром для спирта в дистилляте, полученном после предварительной перегонки спирта из бражки, в соответствии с ГОСТ Р 51135-2003.

Физико-химические показатели сырья и субстрата представлены в таблице. Химическая предобработка гидроксидом натрия в одну стадию позволяет в 4 раза снизить содержание лигнина, в 2 раза — зольность, в 5 раз — содержание пентозанов.

Физико-химические показатели сырья и субстрата

Характеристики субстрата	М.д., % в пересчете на а.с.с.	
	ПОО	субстрат
Целлюлоза по Кюршнеру	37,1	87,5
Зола	4,3	2,3
Пентозаны	34,8	6,2
Лигнин	16,5	4,0

На рисунке 1 представлена зависимость концентрации редуцирующих веществ от продолжительности процессов ферментативного гидролиза и спиртового брожения. Первые 32 ч происходил ферментативный гидролиз, далее — ферментативный гидролиз, совмещенный со спиртовым брожением.

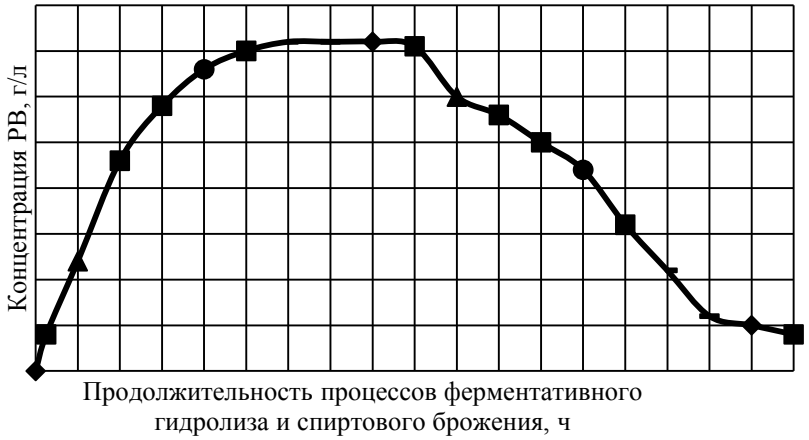


Рис. 1. Зависимость концентрации редуцирующих веществ от продолжительности процессов ферментативного гидролиза и спиртового брожения

Субстрат характеризуется высокой реакционной способностью к ферментативному гидролизу: накопление РВ происходит экспоненциально, уже через 20 ч накапливается максимальная концентрация РВ — 36,3 г/л, т.е. выход РВ составил 54,4%. После внесения дрожжей в течение 4 ч концентрация РВ не изменялась, а затем наблюдалось ее интенсивное снижение. Активная кислотность в процессах ферментативного гидролиза и спиртового брожения поддерживалась на уровне 4,7–5,1, что необходимо для стабилизации работы целлюлазного ферментного комплекса и ферментов зимазного комплекса дрожжей. Проблемой явилось снижение активной кислотности (что обусловлено химизмом гидролиза, а также потреблением азотистых и фосфористых веществ при спиртовом брожении) и необходимостью регулирования уровня pH вручную.

На рисунке 2 показана динамика накопления биоэтанола в процессе спиртового брожения. Для удобства восприятия на абсциссе указано время в часах от начала процесса ферментативного гидролиза. Синтез биоэтанола сопряжен с потреблением субстрата, так как биоэтанол относится к первичным метаболитам.

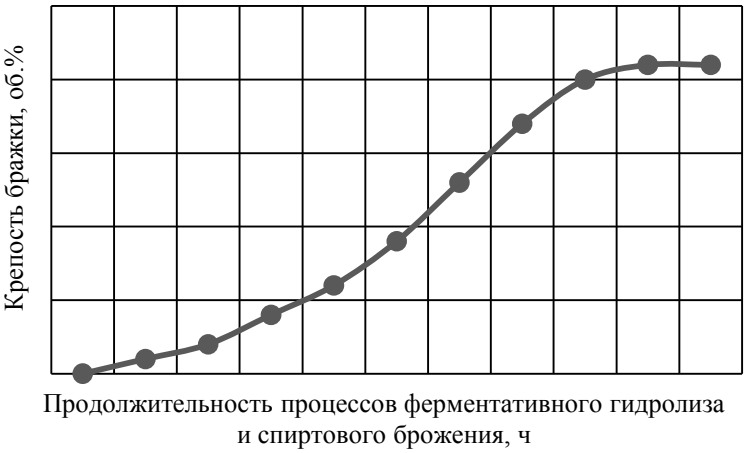


Рис. 2. Динамика накопления биоэтанола в процессе спиртового брожения

При концентрации РВ 36,3 г/л согласно стехиометрическому уравнению брожения может быть получен биоэтанол с крепостью 2,35 об.%. С учетом потерь при перегонке на опытном производстве выход этанола от РВ составил 89,4%. При расчете на сырье выход биоэтанола составил 12,4 дал/т ПОО, что меньше, чем выход из древесины биоэтанола, полученного путем химического гидролиза (17–18 дал/т) [Гельфанд, 2005], но значительно больше, чем выход биоэтанола из ПОО, также полученного путем химического гидролиза (5,7 дал/т) [Chaud et al., 2012, p. 771–777].

Библиографический список

Гельфанд Е.Д. Основы технологии биоэтанола : учеб. пособие. Архангельск, 2005. 54 с.

Скиба Е.А., Будаева В.В., Макарова Е.И., Павлов И.Н., Золотухин В.Н., Сакович Г.В. Биоэтанол из целлюлозы плодовых оболочек овса // Вестник Казан. технол. ун-та. 2013. Т. 16, №22. С. 202–205.

Chaud Luciana Cristina Silveira, Silva Débora Danielle Virgínio da, Mattos Rafael Taino de and Almeida Felipe Maria das Graças de. Evaluation of Oat Hull Hemicellulosic Hydrolysate Fermentability Employing Pichia stipites // Brazilian archives of biology and technology. 2012. V. 55, N. 5. P. 771–777.

УДК 57.083

А.Г. Шевяков, С.С. Ветчинин, С.Ф. Бикетов

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск, Россия)

ПЕТЛЕВАЯ ИЗОТЕРМИЧЕСКАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ И ИММУНОМАГНИТНАЯ СЕПАРАЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ

Реакция петлевой изотермической амплификации ДНК разработана как дешевая и упрощенная альтернатива ПЦР. Метод не требует дорогостоящего оборудования и менее чувствителен к примесям в образце по сравнению с полимеразной реакцией. Иммуномагнитная сепарация — метод, хорошо зарекомендовавший себя в самых разных областях применения. Обосновывается возможность использования иммуномагнитной сепарации бактериальных клеток и последующая идентификация с помощью петлевой изотермической амплификации.

Ключевые слова: петлевая изотермическая амплификация, иммуномагнитная сепарация, микробиологическая диагностика.

A.G. Shevyakov, S.S. Vetchinin, S.F. Biketov

FBUN State Research Scientific Centre Applied Microbiology and Biotechnology (Obolensk, Russia)

LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION AND IMMUNOMAGNETIC SEPARATION IN THE DIAGNOSIS OF MICROBIAL CONTAMINATION

Isothermal DNA amplification designed as a cheap and simple alternative to PCR. The method does not require expensive equipment and less sensitive to impurities in the sample compared to the PCR. Immunomagnetic separation — well-proven method in a variety of applications. The article explains the use of immunomagnetic separation of bacterial cells and the subsequent identification by LAMP.

Key words: LAMP, IMS, microbial diagnostics.

Среди всех используемых методов диагностики амплификация нуклеиновых кислот является наиболее ценным. Известны такие ее варианты, как полимеразная цепная реакция (ПЦР), реакция транскрипционной амплификации (Nucleic Acid

Sequence Based Amplification, NASBA), самоподдерживающаяся последовательная репликация (Self-Sustained Sequence Replication 3SR), амплификация с вытеснением цепи (Strand Displacement Amplification, SDA). Среди этих методов ПЦР самый широко используемый (ПЦР в реальном времени, мультиплекс ПЦР, количественный ПЦР и пр). Преимуществами ПЦР являются высокая чувствительность, специфичность и время анализа по сравнению с культуральным методом. Тем не менее у метода ПЦР есть и существенные недостатки, такие как дорогостоящее оборудование для амплификации, довольно сложные методы обнаружения и анализа результатов, дорогостоящие наборы реагентов.

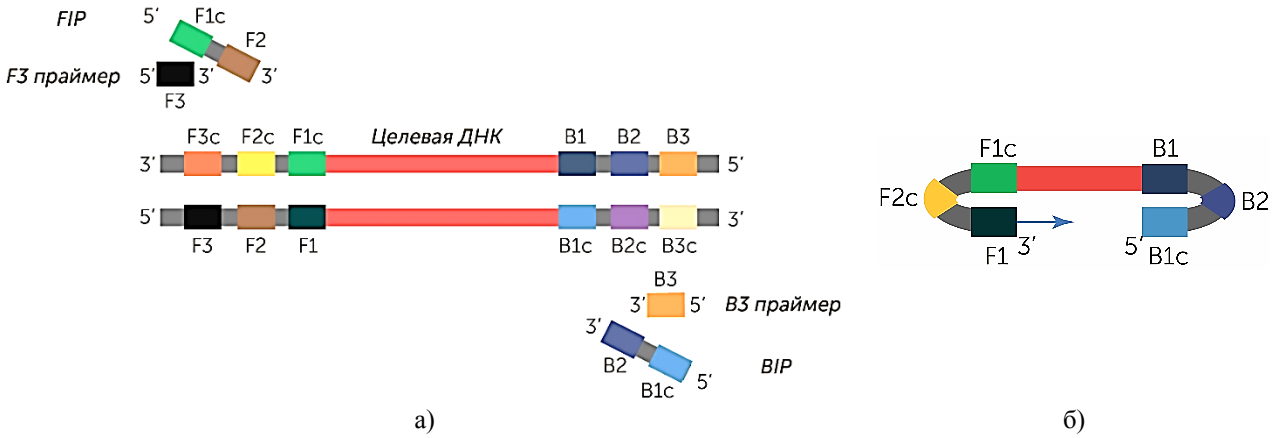
Циклическая изотермическая амплификация (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) появилась как инновационная техника, представляющая собой альтернативный метод диагностики инфекционных заболеваний. Метод чувствителен, специфичен, быстр (нет необходимости в долгом анализе результата) и, что действительно важно, не требует дорогостоящего оборудования и сложного анализа. Впервые LAMP разработан в 1998 г. компанией Eiken Chemical Company (Япония). Амплификацию проводят с помощью четырех–шести специально подобранных праймеров (рис. 1, *а*) для распознавания от шести до восьми специфичных последовательностей гена, используя полимеразу *Bst*, вытесняющую копируемую последовательность [Notomi, 2000; Ushikubo, 2004]. Ключевыми отличиями LAMP от ПЦР являются: 1) изотермическая амплификация при 60–65 °С; 2) специфичность амплификации выше благодаря наличию нескольких праймеров, что уменьшает вероятность перекрестного взаимодействия при контаминации чужеродной ДНК; 3) визуализация продуктов реакции не требует агарозного электрофореза, так как побочным продуктом реакции является пирофосфат магния, вызывающий видимую невооруженным глазом мутность [Mori, 2001].

Вся процедура LAMP включает в себя две стадии: нециклическую и циклическую [Parida, 2008]. На первой стадии происходит генерация искусственной затравочной петли, которая используется для последующих шагов. На первом шаге прямой внутренний праймер (Forward Inner Primer, FIP) связывается целевой последовательностью, инициируя полимеризацию. После этого прямой внешний праймер (F3 праймер) связывается с продуктом и замещает его одноцепочечным затравочным кольцом. Одноцепочечная ДНК служит матрицей для работы обратного внутреннего праймера (Backward Inner Primer, BIP). Затем обратный внешний праймер (B3 праймер) связывается с продуктом и замещает его двумя затравочными кольцами. Получается стартовая структура для начала второй циклической стадии (рис. 1, *б*).

Вторая, циклическая, стадия начинается с гибридизации FIP праймера на кольце продукта первой стадии. Вытесняющий синтез ДНК запускает образование ДНК с новым затравочным кольцом на одном конце и копией последовательности искомого гена. Эти структуры используются как заготовки для последующего синтеза ДНК внутренними праймерами. В итоге происходит накопление копий ДНК, содержащих искомый ген (рис. 2), а также Т-образных петлевых структур ДНК.

Правильный подбор праймеров важен для успешного проведения LAMP. Компания Eiken (Япония) создала интернет-сервис Primer Explorer (http://primerexplorer.jp/e/), с помощью которого можно провести дизайн праймеров на основе известной последовательности нуклеотидов.

Метод LAMP обладает высокой чувствительностью, сравнимой со стандартным PCR. Однако зачастую необходимо анализировать образцы с очень низким содержанием микробных клеток. Например, не допускается наличия L. Monocytogenes в 25 г исследуемого образца продукта питания.



а) б)

Рис. 1: а) исходный набор праймеров и последовательность ДНК, где FIP — прямой внутренний праймер (содержит на 3’ конце F2 регион, на 5’ конце F1c регион); F3 праймер — прямой внешний праймер (содержит F3 регион); BIP — обратный внутренний праймер (содержит на 3’ конце B2 регион, на 5’ конце B1c регион); B3 праймер — обратный внешний праймер (содержит B3 регион); б) конечный продукт нециклической стадии

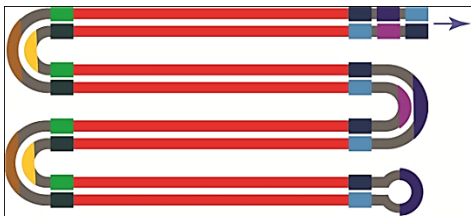


Рис. 2. Один из вариантов конечных продуктов циклической стадии LAMP

Возникает необходимость в накопительном культивировании (увеличение количества клеток, доступных для обнаружения). В подобных случаях представляется обоснованным использовать перед LAMP дополнительную стадию — иммуномагнитную сепарацию. Для каждого конкретного патогена необходимо подбирать соответствующие условия, для некоторых медленно растущих микроорганизмов (как вышеупомянутая *L. Monocytogenes*) может потребоваться предварительное культивирование. Однако время культивирования при использовании ИМС можно существенно сократить, что было показано нами на примере иммунохроматографического теста для *L. monocytogenes* [Шевяков, 2015]. В литературе отмечается успешное применение данного подхода для обнаружения *V. parahaemolyticus* [Escalante-Maldonado, 2015].

Предлагаемая методика (рис. 3) основана на использовании моноклональных антител, полученных к поверхностным антигенам бактерий. Использование именно МкАт позволяет стандартизировать процедуру, так как разные партии поликлональной кроличьей сыворотки могут отличаться по характеристикам. Далее МкАт связываются с магнитными частицами. Оптимальным способом является ориентированное расположение антител на частицах, такому требованию удовлетворяют частицы, связанные с белком G, антимышиными антителами, несущие на поверхности свободные аминогруппы. Полученный иммунмагнитный сорбент одновременно может быть использован для выделения и высева клеток бактерий на питательные среды, для анализа с использованием антисыворотки (в этом случае проводят стандартный твердофазный иммуноферментный анализ, где твердой фазой является поверхность частиц, а не планшета) и проведения LAMP. Первые два метода

являются рутинными лабораторными практиками и не представляют сложности в выполнении, использование готовых реагентов для LAMP также не является сложной процедурой.

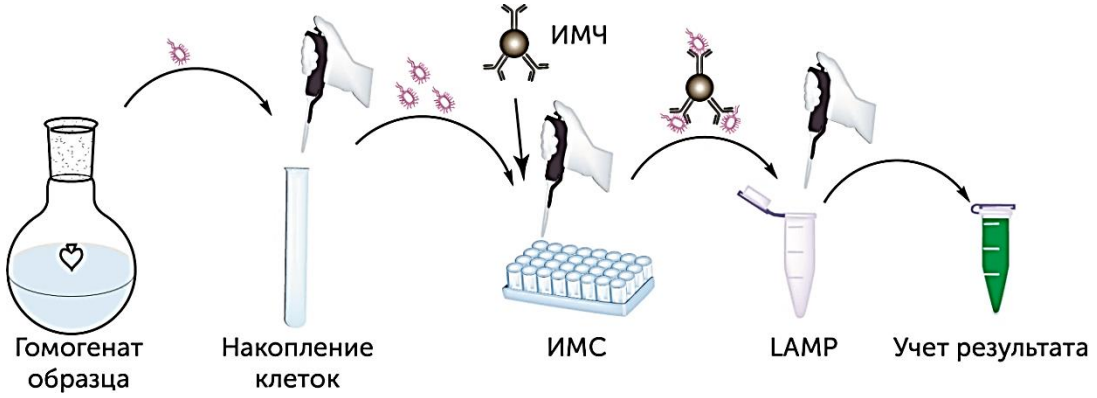


Рис. 3. Принципиальная схема предлагаемого анализа ИМС–LAMP: ИМЧ — иммунмагнитные частицы, ИМС — иммуномагнитная сепарация

Таким образом, возможно провести несколько вариантов анализа за короткий промежуток времени. Замена стандартной ДНК-полимеразы *Bst* на SD-полимеразу может дополнительно повысить чувствительность и эффективность метода [Ignatov, 2014]. Другим немаловажным моментом является возможность высокой локализации данного теста. Большинство необходимых материалов производится в России.

В заключение следует отметить, что метод LAMP не является универсальным и исчерпывающим. К его недостаткам можно отнести сложность подбора праймеров, ограниченность спектра микроорганизмов только теми, специфичные гены которых секвенированы. Тем не менее в условиях недостатка ресурсов использование предложенного подхода можно считать «золотой серединой», позволяющей получить доступ к современным диагностическим методикам. Внедрение этого метода позволит более эффективно контролировать эпидемическую ситуацию и проводить ускоренную клиническую диагностику.

Библиографический список

Шевяков А.Г., Борзенков В.Н., Ветчинин С.С. Диагностика патогенных листерий с применением иммуномагнитной сепарации совмещенной с иммунохроматографией // Проблемы медицинской микологии. 2015. №18 (2).

Escalante-Maldonado O., Kayali Y., Yamazaki W., Vuddhakul V., Nakaguchi Y., Nishibuchi M. Improvement of the quantitation method for the tdh+ Vibrio parahaemolyticus in molluscan shellfish based on most-probable-number, immunomagnetic separation, and loop-mediated isothermal amplification // Frontiers in Microbiology. 2015. V. 6.

Ignatov K. B., Barsova E. V., Fradkov A. F., Blagodatskikh K. A., Kramarova T.V, Kramarov V. M. A strong strand displacement activity of thermostable DNA polymerase markedly improves the results of DNA amplification // Biotechniques. 2014. №57 (2). P. 81–87.

Mori Y., Nagamine K., Tomita N., Notomi T. Detection of Loop-Mediated Isothermal Amplification Reaction by Turbidity Derived from Magnesium Pyrophosphate Formation // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2001. №289 (1). P. 150–154.

Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K. Loop-mediated isothermal amplification of DNA // Nucleic Acids Research. 2000. №28 (12). P. 63e–63.

Parida M., Sannarangaiah S., Dash P.K., Rao P.V.L., Morita K. Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases // Reviews in Medical Virolology. 2008. №18 (6). P. 407–421.

Ushikubo H. The principle of LAMP method — A simple and rapid gene amplification method // Uirusu. 2004. №54 (1). P. 107–112.

ПРОМЫШЛЕННАЯ И ПИЩЕВАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ В XXI ВЕКЕ

BIOasia Altai'2015

МЕЖДУНАРОДНЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СИМПОЗИУМ

УДК 663.813

Е.В. Аверьянова, М.Н. Школьникова

Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова (Бийск, Россия)

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В настоящее время в технологии функциональных продуктов питания наблюдается устойчивая тенденция к использованию натурального растительного сырья и полученных из него функциональных пищевых ингредиентов. С целью обоснования предпочтительных ингредиентов для проектирования рецептур натуральных функциональных продуктов питания приведена классификация функциональных пищевых ингредиентов растительного происхождения по их физиологическому воздействию на организм человека. Показана возможность проектирования рецептур и подбора функциональных пищевых ингредиентов с помощью матрицы и профиля функциональной направленности разрабатываемого функционального пищевого продукта.

Ключевые слова: функциональный пищевой ингредиент, растительное сырье, физиологическое воздействие, матрица функциональной направленности.

E.V. Averyanova, M.N. Shkolnikova

Biysk Technological Institute (branch) Altai State Technical University I.I. Polzunov (Biysk, Russia)

FUNCTIONAL FOOD INGREDIENTS OF PLANT ORIGIN

Currently in functional foods technology there has been a steady trend towards the use of natural plant materials and obtained from functional food ingredients. In order to substantiate the preferred ingredients for the design of formulations of natural functional food classification, functional food ingredients of plant origin according to their physiological effects on the human body. The possibility of designing of formulations and selection of functional food ingredients with the matrix and the functional profile of the direction of the developed functional food product.

Key words Functional food ingredient, plant material, physiological effects, matrix functional orientation.

В условиях неблагоприятного изменения экологической обстановки качество питания ухудшается, что в свою очередь влечет за собой ухудшение здоровья населения планеты. В связи с этим увеличивается значимость функционального питания, основу которого составляют функциональные пищевые продукты.

Согласно ГОСТ Р 52349-2005 функциональный пищевой продукт (ФПП) — специальный пищевой продукт, предназначенный для систематического употребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами здорового населения, обладающий научно обоснованными и подтвержденными свойствами, снижающий риск развития заболеваний, связанных с питанием, предотвращающий дефицит или восполняющий имеющийся в организме человека дефицит питательных веществ, сохраняющий и улучшающий здоровье за счет наличия в его составе функциональных пищевых ингредиентов.

Функциональный пищевой ингредиент (ФПИ) — живые микроорганизмы, вещество или комплекс веществ животного, растительного, микробиологического, минерального происхождения или идентичные натуральным, входящие в состав функционального пищевого продукта в количестве не менее 15% от суточной физиологической потребности, в расчете на одну порцию продукта, обладающие способностью

оказывать научно обоснованный и подтвержденный эффект на одну или несколько физиологических функций, процессы обмена веществ в организме человека при систематическом употреблении содержащего их функционального пищевого продукта.

По оценкам экспертов, на сегодняшний день производство ФПП — наиболее динамично развивающая отрасль пищевой индустрии, по прогнозам на период до 2020 г. функциональное питание составит до 60% от общего объема мирового производства пищевых продуктов. В настоящее время активно разрабатываются и производятся натуральные функциональные пищевые продукты, а в технологии ФПП наблюдается устойчивая тенденция к использованию натурального растительного сырья и полученных из него функциональных пищевых ингредиентов, что послужило причиной изменения и дополнения действующего ГОСТ Р 52349-2005. Так, согласно изменению №1 от 10.09.2010 №239-ст, натуральный функциональный пищевой продукт — ФПП, употребляемый в пищу в переработанном виде, содержащий в своем составе естественные функциональные пищевые ингредиенты исходного растительного и (или) животного сырья в количестве, составляющем в одной порции продукта не менее 15% от суточной потребности. К натуральным ФПП относятся продукты, изготовленные из природного растительного и (или) животного сырья путем его ферментации в целях накопления в составе конечного продукта естественных функциональных пищевых ингредиентов в количестве, составляющем в одной порции продукта не менее 15% от суточной потребности.

В свою очередь, к ФПИ растительного происхождения относят физиологически активные, ценные и безопасные для здоровья ингредиенты с известными физико-химическими характеристиками, для которых выявлены и научно обоснованы полезные для сохранения и улучшения здоровья свойства, установлена суточная физиологическая потребность: растворимые и нерастворимые пищевые волокна, витамины, минеральные вещества, жиры и вещества, сопутствующие жирам — растительные стеролы, полисахариды, вторичные растительные соединения [ГОСТ Р 52349-2005].

На основе предложенной в ГОСТ Р 54059-2010 классификации ФПИ и с целью обоснования предпочтительных ингредиентов для проектирования рецептур натуральных ФПП, ФПИ растительного происхождения можно представить следующим образом (табл.) [ГОСТ Р 54059-2010].

Физиологическое воздействие функциональных пищевых ингредиентов растительного происхождения

ФПИ / СФП*	Физиологическое воздействие
1	*2*
Пищевые волокна / 20,0 г	Стимуляция моторной функции желудочно-кишечного тракта, снижение уровня усвоения жиров и адсорбции аллергенов в кишечнике, нормализация содержания общего холестерина, общих липидов и уровня глюкозы в крови, регулирование аппетита
Витамин А / 900 мкг рет. экв.	Антиоксидантная защита липидов клеточных мембран и липопротеидов, обеспечение местного специфического и неспецифического иммунитета
Витамин С / 90 мг	Поддержание уровня глюкозы в крови, антиоксидантное действие (защита липидов клеточных мембран и липопротеидов), обеспечение системного иммуномодулирующего действия
Витамин В1 / 1,5 мг	Поддержание уровня инсулина в крови, сосудорасширяющее и антиаритмическое действие, питание и кровоснабжение сердечной мышцы
Витамин В2 / 1,8 мг	Поддержание уровня инсулина в крови
Витамин В6 / 2,0 мг	Поддержание уровня инсулина в крови, антитромботическое действие

Окончание таблицы

1	*2*
Витамин B7 (H) / 50 мкг	Участвует в синтезе жиров, гликогена, метаболизме аминокислот
Витамин B12 / 3 мкг	Антитромботическое действие, способствует синтезу нуклеиновых кислот
Витамин B13 / 300 мг	Сосудорасширяющее и антиаритмическое действие, питание и кровоснабжение сердечной мышцы, участвует в синтезе нуклеиновых кислот, фосфолипидов и билирубина
Витамин D / 10 мкг	Формирование и поддержание минеральной плотности костной ткани
Витамин E / 15 мг ток. экв.	Антиоксидантное действие, антисклеротический эффект
Каротиноиды	Антиоксидантное действие, антисклеротический эффект
Флавоноиды и антоцианы / 250 мг	Антиоксидантное действие, сохранение тонуса стенок кровеносных сосудов, их проходимости и антитромботическое действие, сосудорасширяющее и антиаритмическое действие, питание и кровоснабжение сердечной мышцы, поддержание общего уровня холестерина
Растительные стеролы / 300 мг	Нормализация уровня холестерина и триацилглицеринов в крови, триглицеридов в печени
Se / 55–70 мкг	Антиоксидантное действие, антиоксидантная защита липидов клеточных мембран и липопротеидов
Cr / 50 мкг	Поддержание уровня глюкозы в крови
Zn / 12 мг	Поддержание уровня инсулина в крови, антиоксидантная защита липидов клеточных мембран и липопротеидов
Ca / 1000–1200 мг, F / 4 мкг	Формирование и поддержание минеральной плотности костной ткани, снижение риска развития кариеса
Mg / 400 мг, P / 800 мг	Формирование и поддержание минеральной плотности костной ткани
ПНЖК ω-3 / 0,8–1,6 г, ω-6 / 8–10 г	Поддержание уровня инсулина в крови, сохранение тонуса стенок кровеносных сосудов, их проходимости и антитромботическое действие, обеспечение системного иммуномодулирующего действия

Примечание: *Суточная физиологическая потребность для взрослого, в том числе уточненная по [МР 2.3.1.2432-08].

Как видно из таблицы, физиологическое воздействие ФПП может быть обусловлено как одним, так и несколькими ФПИ в составе ФПП. Поэтому на этапе подбора ФПИ при проектировании рецептур натуральных ФПП следует учитывать как суточную физиологическую потребность взрослых и детей, так и индивидуальный вклад каждого ФПИ в функциональную направленность пищевого продукта. Большую помощь на этапе проектирования рецептуры может оказать матрица анализа функциональной направленности, которая оформляется в виде таблицы, содержащей строки с указанием ФПИ, входящего в рецептуру ФПП и столбцы, в которых указываются наиболее характерные эффекты воздействия на организм, присущие тому или иному ФПИ в соответствующей строке таблицы [Егорова и др., 2011].

Матрица анализа функциональной направленности одновременно используемых ФПИ позволяет выявлять недопустимые сочетания, которые могут возникнуть при проектировании рецептуры, и определить те компоненты, действие которых суммируется по характеру однотипного влияния на организм человека; обработка матрицы в программе Excel, позволяет получить профиль функциональной направленности разрабатываемых ФПП. Такой профиль позволяет визуализировать информацию и наглядно представлять наиболее выраженные прогнозируемые свойства ФПП.

Таким образом, на этапе разработки рецептур функциональных пищевых продуктов должны быть учтены следующие требования к функциональным пищевым ингредиентам растительного происхождения:

1) прогнозирование функциональных свойств разрабатываемого ФПП должно осуществляться с учетом всех физико-химических свойств, присущих входящим в его состав ФПИ;

2) на стадии проектирования рецептур ФПП следует избегать их необоснованной многокомпонентности, возникающей при включении в состав ФПИ-дублеров;

3) необходимо учитывать возможность синергического, аддитивного или антагонистического сочетания компонентов химического состава ФПИ между собой и/или с другими компонентами рецептуры;

4) важно соблюдать дозирование ФПИ на основе суточной физиологической потребности для взрослых с учетом пола, возраста, уровня физической активности и детей;

5) технология производства ФПП должна обеспечивать максимальное сохранение веществ, призванных обеспечивать функцию ФПИ.

Библиографический список

ГОСТ Р 52349-2005 Продукты пищевые функциональные. Термины и определения.

ГОСТ Р 54059-2010 Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования.

МР 2.3.1.2432-08. Рациональное питание. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации : методические рекомендации. М., 2008. 41 с.

Егорова Е.Ю., Школьникова М.Н., Гернет М.В., Зайнуллин Р.А., Кунакова Р.В. Производство бальзамов и сиропов. СПб., 2011. 408 с.

УДК 664.002.3:634.1/7

Е.В. Аверьянова, М.Н. Школьникова

Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова (Бийск, Россия)

КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ВТОРИЧНЫХ СЫРЬЕВЫХ РЕСУРСОВ ПЛОДОВО-ЯГОДНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Получены образцы пектина из выжимок различного плодово-ягодного сырья Алтайского края, определены их физико-химические и органолептические характеристики, рассчитаны коэффициенты перехода. Установлена возможность комплексной переработки выжимок с целью получения пектиновых веществ и антоцианового красителя.

Ключевые слова: плодово-ягодное сырье, выжимки, пектиновые вещества, антоцианы.

E.V. Averianova, M.N. Shkolnikova

Biysk Technological Institute (branch) Altai State Technical University I.I. Polzunov (Biysk, Russia)

COMPLEX PROCESSING OF SECONDARY RAW MATERIAL RESOURCES OF FRUIT AND BERRY PRODUCTION

Pectin samples from a residue of various fruit and berry raw materials of Altai region are received, their physical and chemical and organoleptic characteristics are defined, transition coefficients are calculated. Possibility of complex processing of a residue for the purpose of receiving pectinaceous substances and antotsianovy dye is establishe.

Key words: fruit and berry raw materials, pulp, pectin, anthocyanins.

Плодово-ягодное сырье, относящееся к группе пентозансодержащего сырья, а также вторичные продукты его переработки, в частности выжимки, широко используется в мировой практике в качестве биологически активных добавок, технология получения которых основана на различных способах конверсии.

Учитывая значительные запасы в Алтайском крае плодово-ягодного сырья, как культивируемого, так и дикорастущего, при переработке которого количество образующихся отходов составляет от 8 до 40%, целесообразно рассмотреть вопрос их комплексного использования. Наиболее перспективным способом переработки вторичных продуктов плодово-ягодного сырья является биотехнологическая утилизация с одновременным извлечением пектиновых и красящих веществ [Позняковская и др., 2009, с. 174].

Пектины — растительные полисахариды сложного строения, относящиеся к природным биополимерам, обладают высокими гелеобразующими свойствами, обусловленными гидрофильностью мономерных звеньев — галактуроновой кислоты. Природные биополимеры вызывают большой интерес в связи с широким спектром их биологического действия и возможностью практического применения в различных областях. Пектиновые вещества обладают способностью выводить из организма соли тяжелых металлов и радионуклиды (за счет высокого содержания карбоксильных групп), также они используются для лечения язвенной болезни желудка, так как выстилают стенки желудочно-кишечного тракта, препятствуя всасыванию в лимфу и кровь токсинов; понижают уровень холестерина и триглицеридов в крови [Бараненко и др., 2013, с. 371].

В последнее время наблюдается устойчивая тенденция роста потребительского спроса на продукты питания, в составе которых присутствуют только натуральные компоненты. Эта тенденция оказывает влияние и на структуру пищевых производств, что в свою очередь, приводит к увеличению спроса на натуральные пищевые красители. Существенным преимуществом натуральных красителей перед синтетическими являются их безвредность, способность не только придавать желаемый оттенок, но и в ряде случаев повысить его пищевую и биологическую ценность, в частности, антоциановые красители не только придают разнообразные оттенки пищевому продукту (от розового до насыщенного фиолетового), но и обладают антиоксидантными свойствами. Производство натуральных красителей ограничено как в объеме, так и в ассортименте из-за отсутствия промышленных видов сырья. В связи с этим поиск источников натуральных красителей, разработка новых технологий производства и совершенствование существующих являются главными направлениями исследований в этой области. Как правило, в большинстве случаев источниками антоциановых красителей являются различные виды плодов и ягод, а также вторичные продукты их переработки.

Для проведения экспериментальных исследований по извлечению пектина и красящих веществ были взяты выжимки, различного вида культивируемого и дикорастущего ягодного сырья Алтайского края: ягоды жимолости сорта «Памяти Гидзюка», черники, голубики, облепихи, брусники, рябины черноплодной. В качестве контрольного образца был получен пектин из корочек цитрусовых, на который имеются требования нормативной документации [ГОСТ 29186-91, 1993].

Из выжимок ягод пектин был получен традиционным способом — гидролизом-экстракцией 0,5% раствором щавелевой кислоты с последующим осаждением из концентрированных растворов этиловым спиртом [Аверьянова и др., 2015, с. 15–16]. Выпавший «сырой» пектин отделяют центрифугированием.

Очистку образцов пектина проводят, растворяя в небольшом количестве горячей воды, а затем повторно осаждают спиртом. Рыхлый осадок высушивают в тер-

мостате при температуре не выше 45 °С до постоянной массы. Выход пектина, полученного из разных видов сырья, в пересчете на пектовую кислоту и его цветовая характеристика представлены в таблице 1.

Таблица 1

Выход пектина, в пересчете на пектовую кислоту и цвет образцов, %

Вид сырья	Выход пектина, в пересчете на пектовую кислоту	Количественное содержание пектина в сырье	Коэффициент перехода	Цвет
Корочки цитрусовых	0,046	0,062	74	светло-желтый
Жимолость «Памяти Гидзюка»	0,043	0,073	58	темно-лиловый
Черника	0,038	0,042	90	темно-фиолетовый
Голубика	0,054	0,055	98	темно-малиновый
Облепиха	0,019	0,083	23	оранжевый
Рябина черноплодная	0,017	0,018	94	темно-бордовый
Брусника	0,018	0,029	62	светло-бордовый

Окрашивание образцов пектина, выделенного из выжимок ягод, обусловлено наличием антоцианов, содержание которых в образцах жома и образцах пектина установлено опытным путем. Результаты экспериментальных исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2

Количественное содержание антоцианов в выжимках ягод и пектине, %

Сырье	Содержание антоцианов		Коэффициент перехода
	выжимки	пектин	
Жимолость	0,947	0,390	41
Черника	1,455	1,434	98
Голубика	0,466	0,197	42
Рябина черноплодная	1,191	0,780	65
Брусника	0,393	0,169	43

Таким образом, при получении пектина традиционным способом в образец переходит от 41% красящих веществ (выжимки жимолости) до 98% (выжимки черники). Для осветления образцов пектина были проведены исследования, на примере жома жимолости, по извлечению антоцианового красителя растворами соляной и лимонной кислот на стадии подготовки сырья. Рассчитан коэффициент перехода антоциановых веществ. В результате проведенных экспериментов получены данные, представленные в таблице 3, согласно которым можно сделать вывод, что наилучшим способом очистки является применение предварительной обработки выжимок 1% раствором лимонной кислоты в 70% этиловом спирте. При этом в пектин переходит 26% красящих веществ.

Результаты физико-химического анализа образцов пектина представлены в таблице 4. Из данных таблицы видно, что растворы пектина различного происхождения имеют значения pH в диапазоне от 2,0 до 6,0. Оптимальным pH обладают пектины черники, голубики и рябины черноплодной, что характеризует их качество. Минимальным pH обладают пектины, выделенные из выжимок жимолости.

Таблица 3

Количественное содержание антоцианов в обработанных выжимках жимолости и полученном из них пектине

Экстрагент	Содержание антоцианов, %		Коэффициент перехода, %
	в выжимках	в пектине	
70% спирт	0,534	0,459	85
70% спирт + 0,5% HCl	0,397	0,161	40
70% спирт + 1% HCl	0,585	0,473	80
70% спирт + 2% HCl	0,504	0,453	89
70% спирт + 3% HCl	0,514	0,325	63
70% спирт + 0,5% лим. к-та	0,674	0,369	54
70% спирт + 1% лим. к-та	0,919	0,245	26
70% спирт + 2% лим. к-та	0,503	0,454	90
70% спирт + 3% лим. к-та	0,678	0,582	85

Таблица 4

Физико-химические показатели образцов пектина

Сырье для получения пектина	pH	Массовая доля, %					
		пектовой кислоты, Пк	общей золы, З	золы, нераств. в 10% HCl, Зн	ацетильных групп, Ац	карбоксильных групп	
						свободные	связанные
Корочки цитрусовых	2,6	76,60	4,17	0,59	0,081	3,420	7,695
Жимолость «Памяти Гидзюка»	2,0	61,33	2,47	0,11	0,038	1,775	10,846
Черника	3,0	46,00	1,01	0,30	0,383	2,500	11,070
Голубика	3,5	92,00	2,02	0,22	0,210	1,150	12,695
Облепиха	6,0	23,00	4,40	0,66	0,038	3,150	12,645
Брусника	4,0	23,00	1,41	0,58	0,034	4,500	12,330
Рябина черноплодная	3,0	30,60	1,91	0,49	0,060	1,080	13,050

Так как полигалактуроновая (пектовая) кислота составляет основу пектиновых веществ, то этот показатель важен для отнесения пектинов к L- или H-пектинам. Чем выше массовая доля пектовой кислоты в пектине, тем выше его детоксицирующая способность. Наибольшей массовой долей пектовой кислоты обладает пектин голубики, что говорит о его выраженных адсорбционных свойствах.

Зольность характеризует содержание солей галактуроновой кислоты, большое количество которых в составе пектина снижает его адсорбционную способность. Максимальной зольностью обладает пектин из облепихи, что может ограничить его применение в качестве адсорбента.

Ацетильное число пектина колеблется в широких пределах: от сотых долей процента до 2,5%. Присутствие большого количества ацетильных групп влияет на снижение желирующей способности пектина, которая является основным показателем для пектинов, применяемых в пищевой промышленности, поэтому установлены допустимые пределы содержания ацетильных групп для студнеобразующего пектина — не более 1%. Максимальным количеством ацетильных групп обладает пектин черники (0,383%), однако этот показатель находится в пределах нормы.

Решающее значение в определении желирующих свойств пектина имеет метоксильное число, которое характеризует растворимость пектина: из двух пектинов с одинаковой длиной цепи легче растворим тот, у которого выше метоксильное чис-

ло. Чем меньше метоксилированных групп в пектине, тем хуже его желирующая способность, поэтому для желеобразующего пектина установлена норма метоксильных групп не ниже 7%. Чем больше свободных карбоксильных групп в пектине, тем выше его связывающая способность. Наибольшее количество метоксилированных карбоксильных групп содержится в пектине рябины черноплодной, и именно этот пектин, по нашему мнению, является наиболее приемлемым для использования его в рецептурах при производстве мармеладов и джемов. Наибольшее количество свободных карбоксильных групп содержится в пектине из брусники, что свидетельствует о высоких ионообменных свойствах.

Таким образом, технология комплексной переработки вторичных продуктов плодово-ягодного производства является инновационным направлением при создании малоотходных производств и при производстве продуктов функционального назначения. Пектин из выжимок ягод по данным физико-химического анализа относится к высокоэтерифицированному пектину и окрашен в соответствующую окраску сырья. В связи с этим можно рекомендовать использовать такой пектин для получения кондитерских изделий, так как окраска не влияет на вкус и придает кондитерскому изделию характерный цвет.

Библиографический список

Аверьянова Е.В., Школьникова М.Н. Пектин. Получение и свойства : методические рекомендации. Бийск, 2015. 44 с.

Бараненко Д.А., Хлыбов Н.А. Ингредиенты растительного происхождения для пролонгированного хранения пищевой продукции // Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке : материалы VI Междун. науч.-техн. конф. СПб., 2013. С. 370–372.

ГОСТ 29186-91. Пектин. Технические условия. М., 1993. 15 с.

Позняковская Т.С., Голуб О.В. К вопросу о плодово-ягодных отходах // Пища, экология и качество : материалы Междун. науч.-практ. конф. Кемерово, 2009. С. 174–177.

УДК 581.1

А.Н. Акулов, Е.А. Гумерова, Н.И. Румянцева

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН (Казань, Россия)

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПЛОДОВ И КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ГРЕЧИХИ

Общее содержание фенольных соединений в плодах гречихи татарской, гречихи посевной и клетках морфогенной суспензионной культуры гречихи татарской различается несущественно. Спектр фенольных соединений морфогенной суспензионной культуры сходен со спектром фенольных соединений плодов, а содержание рутина сопоставимо.

Ключевые слова: гречиха татарская, гречиха культурная, культура клеток, фенольные соединения, ВЭЖХ, рутин.

A.N. Akulov, E.A. Gumerova, N.I. Rumyantseva

Kazan institute of biochemistry and biophysics Kazan Scientific Center of RAS (Kazan, Russia)

PHENOLIC COMPAUNDS OF FRUITS AND CELL CULTURES OF BUCKWHEAT

The total content of phenolic compounds in fruits of tartary and common buckwheat and cells of morphogenic suspension differs insignificantly. The spectrum of phenolic compounds of tartary buckwheat morphogenic suspension is similar to the spectrum of phenolic compounds of fruits. Rutin content in morphogenic suspension cells is comparable to its content in fruits.

Key words: common buckwheat, tartary buckwheat, cell cultures, phenolic compounds, HPLC, rutin.

Уникальным свойством растений, отличающим их от микроорганизмов и животных, является способность синтезировать и накапливать разнообразные продукты вторичного метаболизма, обладающие биологической активностью [Захожий, 2006, с. 84]. Гречиха является одним из лучших продуцентов фенольных соединений. В России дикорастущими встречаются два вида: гречиха татарская (*Fagopyrum. tataricum*) и гречиха полукустарниковая (*Fagopyrum suffruticosum*). Культивируемым видом является гречиха посевная, или съедобная (*Fagopyrum esculentum*). Несмотря на то, что гречиха татарская считается сорным растением, она может быть источником фармакологически ценных соединений фенольной природы. К фенольным соединениям гречихи татарской относятся рутин, катехин, эпикатехин, ориентин, витексин, кверцетин, кверцитрин и другие [Kim et al., 2008, p. 816, fig. 3]. Некоторые из этих соединений характеризуются важным свойством — высокой антиоксидантной активностью. Тесты на животных и клинические наблюдения показали, что мука из семян татарской гречихи обладает значительным положительным эффектом при лечении сахарного диабета, склероза сосудов головного мозга, сердечно-сосудистых заболеваний и гипертонической болезни [Zang et al., 2012, p. 391], она также способствует усилению работы желудка, переваривания пищи, повышения иммунитета тела к болезням, а также уменьшает склонность к онкологическим заболеваниям. Необходимо отметить, что синтез и накопление различных фенольных соединений в растениях могут быть связаны с различными стадиями онтогенеза или индуцированы биотическим или абиотическим стрессорами [Lattanzio et al., 2006, p. 35; Ramakrishna et al., 2011, p. 1725]. С одной стороны неоднородность условий окружающей среды способствует увеличению разнообразия и уникальности соединений их вторичного метаболизма [Носов, 2005, с. 328], но, с другой стороны, затрудняет возможность получения определенных соединений в необходимых количествах в короткие сроки.

Решением этой задачи может являться использование культивируемых клеток, выращивание которых осуществляется в строго контролируемых условиях и в течение всего года. Важно отметить, что синтез вторичных соединений в культивируемых клетках может отличаться по сравнению с тканями растений [Носов, 2010, с. 10]. В связи с этим целью работы являлось сравнение спектров фенольных соединений плодов и культивируемых клеток гречихи.

Для получения экстракта внутриклеточных фенольных соединений очищенные семена растирали в муку и к навеске 25 мг добавляли 1,5 мл 80% этанола и инкубировали на водяной бане при температуре 80 °С в течение 30 мин. Полученный экстракт осаждали при 12 000 g в течение 10 мин. Для выделения фенольных соединений из клеток *in vitro*, культуру клеток отделяли от среды культивирования, лиофильно высушивали и растирали в порошок. К навеске 25 мг добавляли 300 мкл 80% этанола и инкубировали на водяной бане при температуре 80 °С в течение 30 мин. Полученный экстракт центрифугировали при 12 000 g в течение 10 мин. Определение содержания растворимых фенольных соединений проводили по методу Фолина — Чокальтеу [Folin, Ciocoalteu, 1927] в модификации Синглетона — Росси [Singleton, Rossi, 1965]. Измерение оптической плотности проводили в микрокюветах на спектрофотометре при длине волны 765 нм. Содержание фенольных соединений в экстракте определяли с помощью калибровочной кривой, построенной по галловой кислоте. Содержание фенольных соединений выражали в мг-экв галловой кислоты на 1 г сухого веса. Разделение фенольных соединений проводили методом ВЭЖХ на хроматографической системе высокого давления Breeze (Waters, США). Использовали оригинальную колонку Symmetry® C18, 100Å, 5 μm, 3,9 x 150 mm

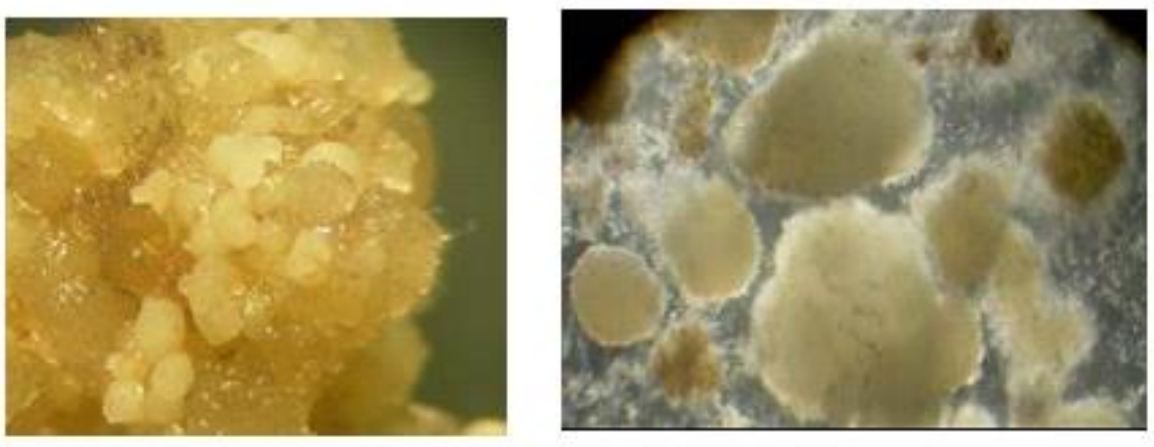
(Waters, США). Детекцию пиков осуществляли посредством двуволнового УФ ВЭЖХ детектора Waters 2489 (Waters, США) при длине волны 260 и 280 нм.

Для разделения использовали следующие растворы:

– раствор А: 2,5% уксусная кислота, этанол, ацетонитрил (40 : 0 : 1);
– раствор Б: 2,5% уксусная кислота, этанол, ацетонитрил (40 : 40 :1).

Градиент раствора Б был построен по следующей схеме: 0–2 мин раствор А : раствор Б = 95 : 5, 2–30 мин раствор А : раствор Б = 95 : 5 → 5 : 95, 30–40 мин раствор А : раствор Б = 5 : 95, 40–43 мин раствор А : раствор Б = 5 : 95 → 95 : 5, 43–45 мин раствор А : раствор Б = 95 : 5. Скорость потока — 0,25 мл/мин. На колонку вносили по 20 мкл пробы, содержащей 1–5 мкг фенольных соединений. Идентификацию пиков и определение их доли в спектре выявляемых на хроматограмме соединений проводили, используя набор стандартных фенольных соединений (галловая, феруловая, *n*-кумаровая кислоты, эпикатехин, кверцитрин, кверцетин, рутин).

В нашей работе мы использовали морфогенные и полученные из них неморфогенные каллусные культуры гречихи татарской. Каллусы инициировали из незрелых зародышей и поддерживали на среде RX [Румянцева и др., 1998, с. 836]. Длительность пассажа морфогенных составляла 25 суток, неморфогенных — 14 суток. Суспензионные культуры клеток получали из каллусов путем их перевода в жидкую среду RX. Морфогенный каллус гречихи татарской является гетерогенной системой, состоящей их проэмбриональных клеточных комплексов (ПЭКК) и клеток «мягкого» каллуса. Характерной особенностью роста морфогенной культуры гречихи татарской является циклическое воспроизводство ПЭКК в ходе пассажа [Румянцева и др., 2003, с. 125].



а) б)

Рис. 1. Морфогенный каллус (а) и морфогенная суспензия (б) гречихи татарской

Для поддержания морфогенной суспензионной культуры использовали фракцию ПЭКК размером 0.5–1.0 мм, которую отбирали, используя соответствующее сито, промывали свежей средой и культивировали при начальной плотности инокулята 150 мг в 20 мл среды в конических колбах объемом 100 мл, в темноте, на шейкере (130 об./мин, Multitron Standart, Infors AG, Швейцария) при температуре 26 °С. Длительность пассажа равнялась 14 дням. В экспериментах использовали 7-суточные неморфогенный каллус, 12-суточный морфогенный каллус и 14-суточные суспензионные культуры.

Было обнаружено, что общее содержание растворимых фенольных соединений в плодах гречихи татарской и гречихи посевной различается незначительно (рис. 2).

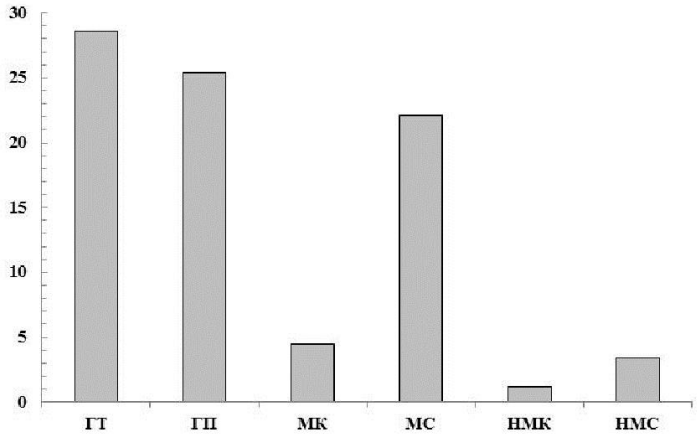


Рис. 2. Содержание фенольных соединений в плодах и культивируемых клетках гречихи в мг-экв.галловой кислоты / мг сухого веса:
ГТ — плоды гречихи татарской, ГП — плоды гречихи посевной,
МК — морфогенный каллус, МС — морфогенная суспензия,
НМК — неморфогеннный каллус, НМС — неморфогенная суспензия

Морфогенные культуры содержат в 2–6 раз больше растворимых фенольных соединений по сравнению с неморфогенными (рис. 2). Необходимо отметить, что суспензионные культуры содержат больше фенольных соединений по сравнению с каллусными. ВЭЖХ-анализ позволил выявить ряд фенольных соединений характерных для гречихи, среди них рутин, кверцетин, кверцитрин, эпикатехин, галловая, феруловая и *п*-кумаровая кислоты (рис. 3).

Сравнение спектров фенольных соединений плодов и морфогенных культур гречихи татарской показало высокую степень сходства. Наличие рутина как основного флавоноида гречихи было выявлено как в плодах, так и в морфогенных культурах, а его содержание в морфогенной суспензии было сопоставимым с его содержанием в плодах. Однако были отмечены и различия, так, содержание кверцетина в плодах гречихи татарской значительно выше, чем в плодах гречихи посевной. В морфогенных культурах кверцетин присутствует в следовых количествах. Известно, что кверцетин является предшественником в синтезе рутина, и можно предположить, что в морфогенных культурах большая часть кверцетина используется для синтеза рутина, который в дальнейшем используется клетками для обеспечения антиоксидантной защиты.

При анализе спектра фенольных соединений плодов было выявлено, что содержание рутина, как основного флавоноида в гречихе татарской было в 8 раз выше по сравнению с его содержанием в плодах гречихи посевной и составляло 10,5% от всех выявленных фенольных соединений (табл.).

Содержание идентифицированных методом ВЭЖХ фенольных соединений, мг/г сухого веса

Соединение / Вариант	Галловая кислота	Эпикатехин	п-Кумаровая кислота	Феруловая кислота	Рутин	Кверцитрин	Кверцетин
F. tataricum	0,045	0,19	0	0,013	**5,25**	0	0,33
F.esculentum	0,46	0,026	0,016	0,054	0,67	0,014	0,008
МК	1,2	0,024	0,003	0,003	0,47	0,03	0,006
МС	2,69	0,091	0,01	0,035	**3,52**	0,022	0,008
НМК	0,41	0,029	0	0,003	0,026	0,003	0,008
НМС	0,57	0,005	0,026	0,006	0,028	0	0

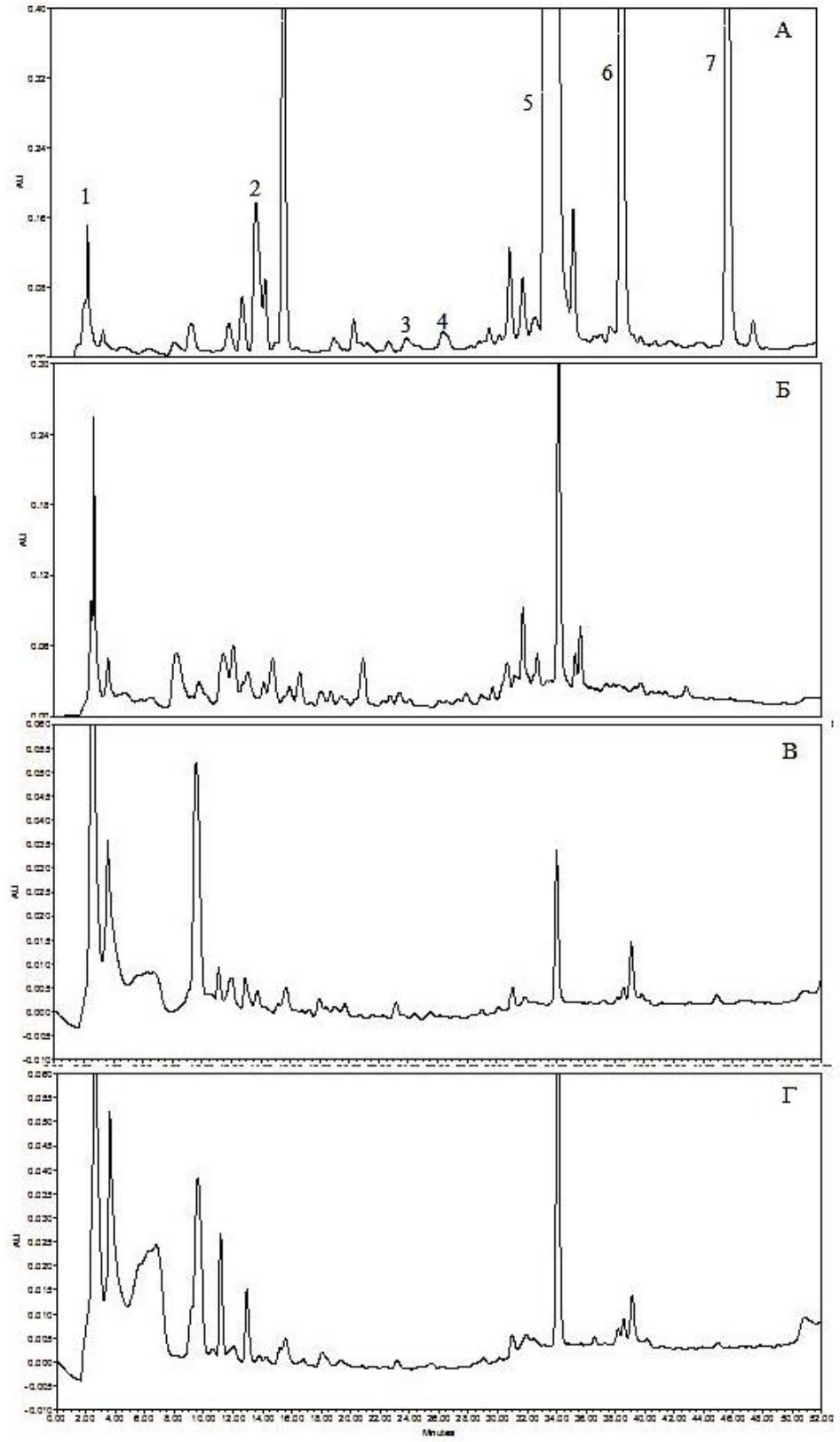


Рис. 3. ВЭЖХ-хроматограмма спиртового экстракта фенольных соединений гречихи:

А — плоды гречихи татарской, Б — плоды гречихи культурной, В — морфогенный каллус, Г — морфогенная суспензия. Идентифицированные пики соединений: 1 — галловая кислота, 2 – эпикатехин; 3 — *п*-кумаровая кислота; 4 — феруловая кислота; 5 — рутин; 6 — кверцитрин, 7 — кверцетин

Важным является и тот факт, что содержание рутина возрастает в суспензионной культуре по сравнению с каллусной, что может быть связано с увеличением количества образующихся ПЭКК при культивировании в жидкой среде. Ранее нами было показано, что поверхностные клетки ПЭКК гречихи татарской синтезируют и накапливают в вакуоли фенольные соединения [Архипова и др. 2007, с. 6, рис. 1]. Спектр фенольных соединений неморфогенных культур был существенно беднее, чем спектр морфогенных, и содержал в основном фенольные кислоты и незначительное количество рутина. В связи с этим дальнейшее изучение и использование неморфогенных культур являлось неперспективным. Таким образом, культивирование в жидкой среде не только увеличивает скорость роста культуры, но и повышает накопление фенольных соединений, что позволяет рассматривать суспензионные морфогенные культуры клеток гречихи татарской в качестве потенциальных продуцентов для производства биологически активных веществ.

Библиографический список

Архипова С., Акулов А.Н., Румянцева Н.И. Колокализация арабиногалактановых белков и фенолов в клетках проэмбриональных клеточных комплексов морфогенного каллуса и незрелых плодов гречихи татарской // Структура и динамика молекулярных систем : материалы Всероссийской молодежной конференции. Казань, 2007. С. 4–7.

Захожий И.Г. Физиолого-биохимические основы накопления продуктов вторичного метаболизма — салидрозида и розавина в растениях Rhodiola rosea L. : дис. … канд. биол. наук. Сыктывкар, 2006. 139 с.

Носов А.М. Лекарственные растения официнальной и народной медицины. М., 2005. 800 с.

Носов А.М. Использование клеточных технологий для промышленного получения биологически активных веществ растительного происхождения // Биотехнология. 2010. №4. С. 8–28.

Румянцева Н.И., Валиева А.И., Самохвалова Н.А., Мухитов А.Р., Агеева М.В., Лозовая В.В. Особенности лигнификации клеточных стенок каллусов гречихи, различающихся по способности к морфогенезу // Цитология. 1998. Т. 40, №10. С. 835–842.

Румянцева Н.И., Шамай Й., Энзикат Х.-Й., Сальников В.В., Костюкова Ю.А., Балушка Ф., Фолькманн Д. Изменение поверхностной сети экстраклеточного матрикса в процессе циклического воспроизводства проэмбриональных клеточных комплексов в морфогенном каллусе Fagopyrum tataricum (L.) Gaertn. // Докл. РАН. 2003. Т. 391. С. 123–127.

Folin O., Ciocalteu V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins // J. Biol. Chem. 1927. V. 73, №2. P. 627–650.

Kim S.J., Zaidul I.S.M., Suzuki T., Yuji M., Hashimoto N., Takigawa S., Noda T., Matsuura-Endo C., Yamauchi H. Comparison of phenolic compositions between common and tartary buckwheat (Fagopyrum) sprouts // Food Chem. 2008. V. 110. P. 814–820.

Lattanzio V., Lattanzio V.M.T., Cardinali A. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects // Phytochemistry: Advances in Research / Ed. Imperato F. Trivandrum, Kerala, India, 2006. P. 23–67.

Ramakrishna A., Ravishankar G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants // Plant Signal Behav. 2011. V. 14. P. 1720–1731.

Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phoungstic acid reagent // Am. J. Enol. Vitic. 1965. Vol. 16. P. 144–158.

Zhang Z.L., Zhou M.L., Tang Y., Li F.L., Tang Y.X., Shao J.R., Xue W.T., Wu Y.M. Bioactive compounds in functional buckwheat food // Food Res. Int. 2012. V. 49. P. 389–395.

УДК 664.786

Л.В. Анисимова[1], А.А. Выборнов[2]

[1]Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

[2]Управление Алтайского края по пищевой, перерабатывающей, фармацевтической промышленности и биотехнологиям (Барнаул, Россия)

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ ЗЕРНА ПОД ВАКУУМОМ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БЕЗОПАСНОСТИ ЯЧМЕННОЙ МУКИ

Приведены результаты исследования изменения активности ферментов, определяемой показателями кислотности и кислотного числа жира (КЧЖ), а также развития микрофлоры в ячменной муке, полученной разными способами (из зерна, прошедшего гидротермическую обработку (ГТО) с увлажнением под вакуумом, отволаживанием и сушкой, и из зерна, не подвергавшегося ГТО) в процессе хранения. Установлено, что применение гидротермической обработки зерна оказывает существенное влияние на процессы, протекающие в ячменной муке при хранении, снижая активность ферментов и микробиологическую обсемененность готового продукта.

Ключевые слова: ячменная мука, вакуум, гидротермическая обработка, кислотность, кислотное число жира, микробиологические показатели безопасности.

L.V. Anisimova[1], A.A. Vybornov[2]

[1]Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

[2]Office of the Altai Territory of food processing, pharmaceuticals and biotechnology (Barnaul, Russia)

INFLIUENCE OF GRAIN PROCESSING UNDER VACUUM ON THE ENZYME ACTIVITY AND MICROBIOLOGICAL INDICATORS OF SAFETY OF BARLEY FLOUR

Results of researches on changes in changes in the activity of enzymes, determined by the acidity and acid number of fat, and the development of microflora in barley flour, produced with various methods (from the grain subjected to the hydrothermal treatment (HTT) with moistening under vacuum, tempering and drying, and from the grain which wasn't subjected to the HTT) during its storage are given. It was found that the application of the HTT of grain have a significant influence on the processes that occur in barley flour during storage, reducing the activity of enzymes and microbial contamination of the final product.

Key words: barley flour, vacuum, hydrothermal treatment, acidity, acid number of fat, microbiological indicators of safety.

Рацион современного человека сложился около 400 лет назад и в настоящее время представлен в основном консервированной, подвергнутой глубокой технологической обработке пищей. В связи с этим в настоящее время в России наблюдаются следующие нарушения пищевого статуса: избыточное потребление животных жиров, недостаточное потребление полноценных (животных) белков, витаминов и минеральных веществ, а также дефицит пищевых волокон [Позняковский, 2011, с. 10–12].

Исходя из значимости здоровья нации для безопасности страны и важности полноценного здорового питания, а также из необходимости принятия мер по повышению уровня обеспеченности функциональными и специализированными продуктами питания, органами государственной власти разработаны и утверждены «Основы государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года» и «Здоровое питание населения Алтайского края» на 2013–2017 годы», одной из важнейших задач которых является наращивание производства и расширение ассортимента пищевых продуктов, обогащенных

незаменимыми компонентами, а также продуктов функционального и лечебно-профилактического назначения [Распоряжение Правительства РФ от 25.10.2010 №1873-р; Постановление Администрации Алтайского края от 11.06.2012 №314].

С учетом физико-химических особенностей ячменя, его высокой пищевой ценности, а также большого потенциала использования данной культуры в пищевой промышленности [Ullrich, 2011, p. 546–548] внедрение новых технологий получения продуктов переработки зерна ячменя и расширение ассортимента изделий на их основе весьма перспективно. Авторами данной статьи разработана технология производства муки из ячменя, отличительная особенность которой — использование интенсивной гидротермической обработки с увлажнением зерна под вакуумом [Анисимова, 2013, с. 151–155].

Известно, что при хранении муки в ней протекают различные физические, химические биохимические и биологические процессы, среди которых можно выделить как положительные (созревание), так и отрицательные (прогоркание, прокисание, плесневение, самосогревание и др.) [Трисвятский, 1986, с. 212–226]. На интенсивность указанных процессов влияют как условия хранения, так и исходное качество муки, в первую очередь активность ферментов и обсемененность микроорганизмами. В связи со сказанным нами было изучено влияние способов получения ячменной муки на ее исходное качество (кислотность, кислотное число жира, содержание микроорганизмов) и изменение качества муки в процессе хранения.

В опытах использовали зерно ячменя сорта Задел (Алтайский край, АНИИСХ). Ячменную муку (проход сита №045) получали путем измельчения шелушеного зерна (пенсака) на лабораторной мельнице. На хранение закладывали образцы муки, выработанной из зерна ячменя, прошедшего ГТО с увлажнением под вакуумом, отволаживанием и сушкой. Для сравнения параллельно проводили исследование стойкости при хранении ячменной муки, полученной из исходного зерна, не подвергавшегося ГТО. Первый этап гидротермической обработки осуществляли в устройстве для интенсивного увлажнения зерна под вакуумом, разработанном на кафедре «Технология хранения и переработки зерна» АлтГТУ им. И.И. Ползунова [Пат. 2527294 RU, МПК B02B1/04], после чего ячмень направляли на отволаживание и сушку.

Образцы муки хранили в тканевых мешочках в лабораторных условиях, приближенных к условиям производства и торговли, при температуре воздуха (20 ± 0,5) °С и относительной влажности воздуха (65 ± 1)%. Качество муки оценивали по кислотному числу жира согласно ГОСТ 31700-2012 и кислотности по водно-спиртовой вытяжке. Микробиологические исследования проводили в соответствии с требованиями ГОСТ 10444.15-94.

Кислотность муки характеризует степень ее свежести. Увеличение содержания веществ, имеющих кислый характер, в процессе хранения происходит за счет окисления природных органических соединений при свободном доступе кислорода воздуха, их ферментативного гидролиза до простых веществ.

Исходная кислотность образцов ячменной муки, полученной из зерна, прошедшего ГТО, значительно меньше кислотности ячменной муки из зерна, не подвергавшегося ГТО (рис. 1), что объясняется особенностями химического состава данных продуктов. Зерно, не прошедшее ГТО, шелушится хуже, при этом в нем сохраняются периферийные части, богатые кислореагирующими веществами. Кроме того, термическое воздействие на зерно при ГТО приводит к частичной инактивации ферментов и частичной стерилизации зерна, что должно повышать стойкость при хранении выработанной из него муки.

Кислотность муки, полученной с использованием ГТО зерна, имела меньший уровень на протяжении всего срока хранения, а при хранении муки свыше 120 су-

ток наблюдались более низкие темпы роста кислотности данного вида муки. Судя по представленным данным, инактивированные ферменты не восстановили свою активность в течение всего срока хранения муки.

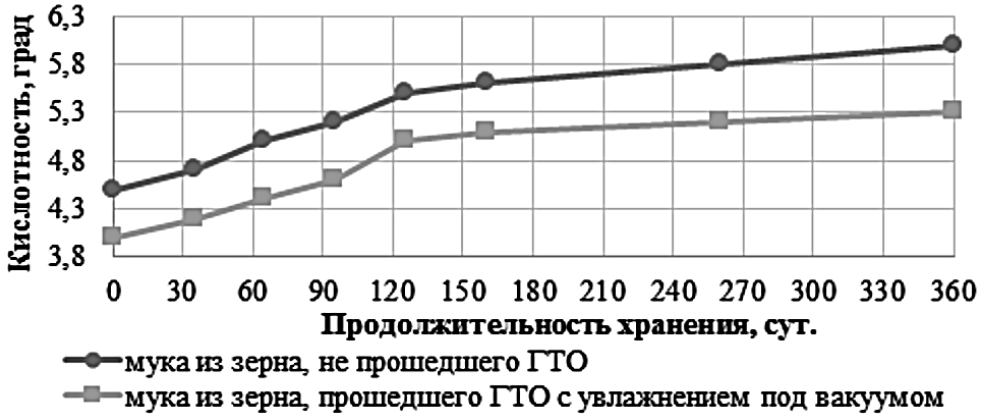


Рис. 1. Влияние способа обработки зерна на изменение кислотности по водно-спиртовой вытяжке ячменной муки в процессе хранения

Уровень кислотного числа жира характеризует содержание свободных жирных кислот, накапливающихся в процессе хранения продукта вследствие ферментативного гидролиза жиров. Чем выше активность липолитических ферментов, тем вероятнее развитие процесса прогоркания муки. В результате исследований установлено, что с увеличением продолжительности хранения (рис. 2) наиболее интенсивно возрастает КЧЖ ячменной муки, выработанной из зерна, не прошедшего ГТО. Полученные результаты можно объяснить снижением активности ферментов в зерне в процессе гидротермической обработки и лучшим отделением при шелушении жиросодержащих частей зерновок, например зародыша, вследствие обработки зерна под вакуумом.

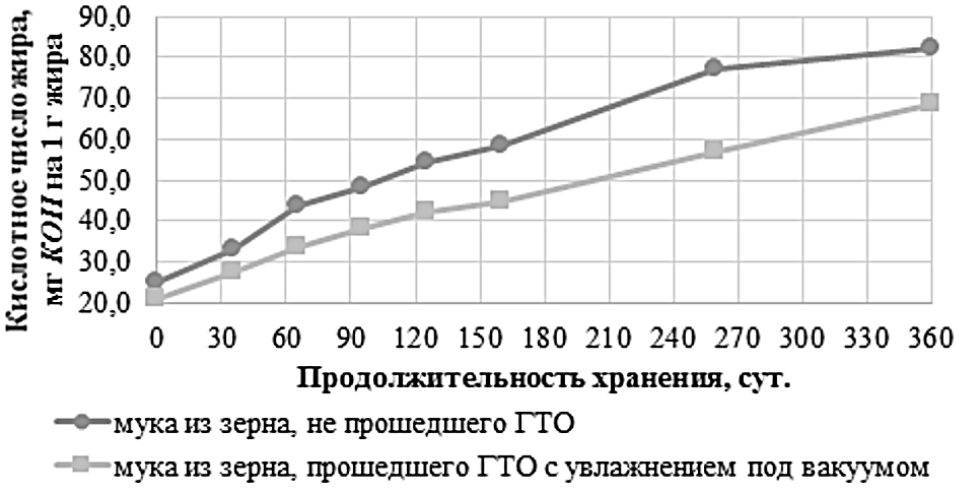


Рис. 2. Влияние способа обработки зерна на изменение кислотного числа жира ячменной муки в процессе хранения

Микроорганизмы попадают в муку в большом количестве. Повышенное содержание микроорганизмов приводит к снижению качества муки и возникновению болезней хлебобулочных изделий после выпечки. Согласно результатам прове-

денных исследований (табл.), начальная микробиологическая обсемененность муки из зерна, прошедшего ГТО, меньше, а развитие колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) и плесеней происходит значительно медленней, чем в муке из зерна, не подвергнутого ГТО. Следовательно, повышение эффективности шелушения зерна в результате ГТО приводит к тому, что в муку попадает меньшее количество периферийных слоев зерна и зародыша, что снижает ее микробиологическую обсемененность. Кроме того, термическое воздействие при ГТО обеспечивает гибель части микроорганизмов зерна.

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение гидротермической обработки с увлажнением зерна под вакуумом при производстве ячменной муки способствует инактивации ферментов, приводящих к повышению кислотности и прогорканию продукта в процессе хранения, а также значительно замедляет развитие микроорганизмов, что обеспечивает повышение стойкости муки в процессе хранения.

Влияние способов обработки зерна на микробиологические показатели безопасности ячменной муки в процессе хранения

Способ обработки зерна	Наименование показателя	Продолжительность хранения, сут.							
		0	35	65	95	125	160	260	360
Без ГТО	КМАФАнМ, КОЕ/г·10^3	2,0	2,0	2,5	2,5	2,5	3,0	3,5	4,0
	Плесени, КОЕ/г	10	10	10	10	10	10	20	30
ГТО с увлажнением под вакуумом, отволаживанием и сушкой	КМАФАнМ, КОЕ/г·10^3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,5	2,0	2,0
	Плесени, КОЕ/г	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	10	10

Библиографический список

Анисимова Л.В., Выборнов А.А. Технологические свойства зерна ячменя при переработке в крупу и муку // Ползуновский вестник. 2014. №4/4. С. 151–155.

Патент 2527294 RU. МПК B02B1/04 Устройство для интенсивного увлажнения зерна / Л.В. Анисимова, С.В. Якушев, А.А. Выборнов, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова» 2012154778/13; заявл. 17.12.2012; опубл. 27.08.2014.

Позняковский В.М. О некоторых приоритетах науки о питании // Ползуновский вестник. 2011. №3/2. С. 7–22.

Здоровое питание населения Алтайского края на 2013–2017 годы : Постановление Администрации Алтайского края от 11.06.2012 №314 [Электронный ресурс]. URL: http://www.altairegion22.ru/upload/iblock/4e8/314_12.PDF.

Основы государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года : Распоряжение Правительства РФ от 25 октября 2010 г. N1873-р [Электронный ресурс]. URL: http://www.rg.ru/2010/11/03/pravila-dok.html.

Трисвятский Л.А. Хранение зерна. М., 1985. 351 с.

Ullrich S.E. Barley Production, Improvement, and Uses. Blackwell Publishing Ltd., 2011. 603 p.

УДК 661.7:691.1

А.Н. Афаньков, В.В. Коньшин, О.С. Беушева, М.В. Вододохова, А.А. Беушев
Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

КОМПОЗИЦИОННЫЕ СТРОИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ИЗ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ДЕРЕВООБРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Представлены результаты изготовления композиционных плитных материалов методом горячего прессования с использованием метода взрывного автогидролиза из отходов сельского хозяйства и деревообрабатывающей промышленности.

Ключевые слова: композиционные строительные материалы, взрывной автогидролиз, связующее.

A.N. Afankov, V.V. Konshin, O.S. Beusheva, M.V. Vododohova, A.A. Beushev
Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

COMPOSITE BUILDING MATERIALS MADE OF AGRICULTURAL WASTE AND WOOD INDUSTRY

The results of the production of composite board materials by hot pressing method using explosive autohydrolysis of agricultural waste and wood industry.

Key words: composite building materials, explosive autohydrolysis, binder.

Обладая хорошими потребительскими свойствами, древесные композиционные материалы получили широкое применение по всему миру. В настоящее время в качестве связующих веществ при их производстве используют токсичные и дорогостоящие смолы (например, фенолформальдегидные), опасные для человека не только при их производстве, но и в процессе эксплуатации. Однако на территории Алтайского края практически не используются многотоннажные отходы сельского хозяйства и деревообрабатывающей промышленности (солома злаковых, оболочки, лузга, хвоя и зелень хвойных т.д.), что местами приводит к неблагоприятной экологической обстановке.

С целью получения плитных материалов различного назначения, не уступающих по своим свойствам стандартным древесно-волокнистым и древесно-стружечным плитам (ДВП и ДСП), нами предлагается модификация отходов перегретым водяным паром (взрывной автогидролиз, ВАГ) и их последующее прессование. Следует отметить, метод ВАГ достаточно широко используется за рубежом для обработки растительного сырья различного происхождения [Li et al., 2005, p. 175–187]. Характерной особенностью предлагаемого подхода является то, что при их получении отпадает надобность в использовании синтетических связующих веществ.

В результате проделанной работы нами получены опытные образцы плитных материалов из хвои сосны обыкновенной (*Pinus silvestris*), лузги подсолнечника (*Helianthus*), оболочек овса посевного (*Avena sativa*) и гречихи (*Fagopyrum*). Обработанные по методу взрывного автогидролиза продукты представляли собой массу коричневого цвета (вследствие конденсации лигнинных веществ на поверхности волокна) различной степени разволокнения. Высушенная масса в дальнейшем была использована для получения плитных материалов методом горячего прессования. Условия обработки и технологический режим представлены в сообщении [Афаньков и др., 2014, с. 23–25]. В таблице 1 на примере плитных материалов, изготовленных из зелени сосны, приведены результаты обработки и свойства плитных материалов.

Таблица 1

Условия обработки и свойства плитных материалов, получаемых из зелени сосны обыкновенной

№ опыта	Условия ВАГ		Свойства плитных материалов			
	температура, °С	время обработки, мин	плотность, кг/м³	предел прочности при изгибе, МПа	водопоглощение, %	разбухание по толщине, %
1	180	10	1180 ± 20	35,8 ± 0,5	не выдержали испытаний	не выдержали испытаний
2	200	10	1220 ± 40	36,1 ± 0,5	17,0 ± 0,3	15,0 ± 0,3
3	205	10	1200 ± 40	37,8 ± 0,5	14,7 ± 0,3	11,2 ± 0,2
4	210	10	1170 ± 20	36,9 ± 0,5	10,1 ± 0,2	10,0 ± 0,2
5	220	10	1080 ± 20	27,4 ± 0,5	10,8 ± 0,2	8,0 ± 0,2
6	210	5	1240 ± 40	44,2 ± 0,7	14,4 ± 0,3	13,1 ± 0,3
7	210	15	1200 ± 40	27,7 ± 0,5	16,7 ± 0,3	5,1 ± 0,2

Полученные по предлагаемой технологии плитные материалы (табл. 2) соответствуют всем требованиям ГОСТов [ГОСТ 10634-88, ГОСТ 10635-88], предъявляемым к материалам типа ДВП и ДСП, а по некоторым характеристикам (например, гидрофобные свойства) превосходят их.

Таблица 2

Основные характеристики стандартных и полученных нами плитных материалов

Наименование показателя	Норма для марок плит				Полученные образцы
	СТ	Т-В, Т-СВ	Т, Т-П, Т-С, Т-СП		
			группа А	Группа В	
Плотность, кг/м³	950–1100	850–1100	850–1100	800–1100	960–1200
Предел прочности при изгибе, МПа	47	40	38	33	46
Влажность, %	3	4	4	4	4
Водопоглощение поверхности за 24 ч, %	7	7	11	13	6

Примечание: СТ — твердые плиты с лицевым слоем из тонкодисперсной древесной массы; Т-В — твердые плиты с необлагороженной лицевой поверхностью и повышенной водостойкостью; Т-СВ — твердые плиты с лицевым слоем из тонкодисперсной древесной массы и повышенной водостойкостью; Т — твердые плиты с необлагороженной лицевой поверхностью; Т-П — твердые плиты с подкрашенным лицевым слоем; Т-С — твердые плиты с лицевым слоем из тонкодисперсной древесной массы; Т-СП — твердые плиты с подкрашенным лицевым слоем из тонкодисперсной древесной массы.

Полученные материалы из-за отсутствия различных дорогостоящих синтетических добавок имеют невысокую себестоимость и экологически безопасны.

Одним из важных и мало изученных вопросов является установление закономерностей взаимодействия основных компонентов растительного сырья (гемицеллюлоз, лигнина, целлюлозы) друг с другом, в процессах взрывного автогидролиза и в результате прессования, приводящих к получению прочных материалов.

В таблице 3 на примере получения плитных материалов из оболочек овса, приведены данные по содержанию основных компонентов растительного сырья в зависимости от давления водяного пара в реакторе взрывного автогидролиза. Целлюлозу, лигнин, легкогидролизуемые полисахариды (ЛГП) и редуцирующие вещества

(РВ) в модифицированных оболочках овса определяли по стандартным методикам, приведенным в работе [Оболенская и др., 1991, с. 320].

Как известно, в процессе взрывного автогидролиза происходит гидролиз углеводной части (прежде всего гемицеллюлоз), а также реакции, связанные с деструкцией углеводов и лигнина. Деструктированные продукты способны растворяться и переходят в раствор. Растворимость модифицированного материала по сравнению с необработанными оболочками овса увеличивается с 15,9 до 42,3% (в холодной воде) и с 21,3 до 43,7% (в горячей воде). Анализ методом ЯМР ^{13}С-спектроскопии показывает, что в данном случае в раствор переходят гемицеллюлозы — пентозаны. Об этом свидетельствует появление сигналов на спектрах водорастворимых экстрактов в области 92–102 м.д., характерных для атомов С в ксилозе и ксиланах.

Образовавшиеся при обработке перегретым водяным паром редуцирующие вещества в процессе горячего прессования взаимодействуют с фенилпропановыми единицами лигнина, превращаясь в фенолоспирт. Фенолоспирт является связующим, обеспечивающим прочность плитных материалов. Таким образом, технологические характеристики плитных материалов напрямую зависят от количества образующихся редуцирующих веществ и от протекающих реакций поликонденсаций между углеводной и ароматической составляющими растительного комплекса.

Таблица 3

Условия обработки и некоторые свойства пресс-массы, полученной из оболочек овса, %

Показатель	Исходный материал	Давление водяного пара в реакторе, МПа				
		1,01	1,22	1,52	1,82	2,03
Целлюлоза	34,0	33,0	33,3	29,1	40,2	43,3
Лигнин	13,7	25,1	30,6	30,8	45,7	43,1
Легкогидролизуемые полисахариды (ЛГП)	48,0	31,1	32,1	23,3	12,8	12,7
Редуцирующие вещества (РВ)	0	6,3	7,8	11,4	4,2	4,5
Вещества, растворимые в холодной воде	15,9	35,7	42,3	36,3	22,3	17,3
Вещества, растворимые в горячей воде	21,3	33,6	43,7	43,0	27,7	24,4
Редуцирующие вещества в плитных материалах	-	5,8	3,2	0,1	1,0	1,1

При этом было установлено, что наиболее прочные плитные материалы получаются в условиях, обеспечивающих не только образование наибольшего количества редуцирующих веществ, но и способствующих протеканию реакций поликонденсаций. Так, наиболее прочные материалы из оболочек овса получаются при обработке растительного материала под давлением пара 1,52 МПа (см. табл. 2). В этих же условиях редуцирующие вещества реагируют практически полностью (содержание РВ снижается с 11,4% в обработанном материале до 0,1% в плитном материале).

Аналогичная картина наблюдается и для плитных материалов, полученных из хвои сосны, лузги подсолнечника и гречихи.

Библиографический список

Афаньков А.Н., Коньшин В.В., Беушева О.С., Вододохова М.В. Изготовление композиционных плитных материалов из оболочек овса // Международный научно-исследовательский журнал. 2014. №12-1. С. 23–25.

ГОСТ 10634-88. Плиты древесностружечные. Методы определения физических свойств.

ГОСТ 10635-88. Плиты древесностружечные. Методы определения предела прочности и модуля упругости при изгибе.

Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М., 1991. 320 с.

Li J., Henriksson G., Gellerstedt G. Carbohydrate Reactions During High-Temperature Steam Treatment of Aspen Wood // Applied Biochemistry and Biotechnology. 2005. V. 125. P. 175–187.

УДК 577.1

Н.Г. Базарнова, М.В. Зеленцова, И.В. Микушина

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ СОЛОМЫ ГРЕЧИХИ, ОВСА И СОИ ПРЕПАРАТОМ ЦЕЛЛОЛЮКС А

Промышленная биотехнологическая переработка ежегодно возобновляемых растительных отходов сельского хозяйства позволит решить как проблему их утилизации, так и улучшения кормовой базы для жвачных животных за счет повышения питательной ценности соломы злаковых и бобовых культур, а также позволит получать новые продукты для пищевой промышленности. Изучен процесс ферментативного гидролиза образцов соломы гречихи, овса и сои препаратом Целлолюкс А. Установлено, что выход редуцирующих веществ в процессе ферментативного гидролиза повышается после проведения частичной делигнификации растительной биомассы. Показано, что ферментативному гидролизу подвержены в первую очередь аморфные области целлюлозных микрофибрилл.

Ключевые слова: ферментативный гидролиз, делигнификация, солома гречихи, овса, сои, редуцирующие вещества, Целлолюкс А, целлюлоза, полисахариды, клеточная стенка.

N.G. Bazarnova, M.V. Zelentsova, I.V. Mikushina

Altai State University (Barnaul, Russia)

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF STRAW BUCKWHEAT, OATS AND SOYBEANS PREPARATION TSELLOLYUKS-A

Industrial biotech processing vegetable annually renewable agricultural waste will solve the problem as the disposal and improve forage for ruminants by improving the nutritional value of the straw cereals and legumes, as well as allow to obtain new products for the food industry. The process of enzymatic hydrolysis samples buckwheat straw, oat and soybean preparation Tsellolyuks A. found that the yield of reducing substances in the enzymatic hydrolysis increases after partial delignification of plant biomass. It has been shown that enzymatic hydrolysis exposed, primarily amorphous regions of cellulose microfiber.

***Key words*:** enzymatic hydrolysis, delignification, buckwheat straw, oats, soy, reducing agents, Tsellolyuks A, cellulose, polysaccharides, cell wall.

В последнее время в России, в частности в Алтайском крае, возрастает количество отходов сельского хозяйства, которые нерационально используются. В связи

с этим остро стоит проблема промышленной переработки отходов растительного происхождения.

Основным достоинством недревесной растительной биомассы (соломы сельскохозяйственных растений) является его ежегодная воспроизводимость и невысокая стоимость.

Биоконверсия возобновляемого растительного сырья в топливо, кормовые и пищевые продукты, полупродукты для химической и микробиологической промышленности рассматриваются в настоящее время как одна из ключевых отраслей биотехнологии. Одно из направлений этой отрасли предусматривает способы превращения непищевого сырья (отходов растениеводства в сельском хозяйстве) с помощью ферментов и микроорганизмов в целевые продукты — углеводы и биологически активные вещества.

Ферментативное превращение целлюлозосодержащего сырья перспективно не только с точки зрения создания самостоятельных малоотходных технологий, но и с позиции снижения экологической нагрузки различных производств целлюлозно-бумажной и других отраслей промышленности, перерабатывающих растительное сырье и образующих большое количество отходов.

К настоящему времени ферментативные технологии стали одним из наиболее эффективных средств трансформации многих видов биологического сырья [Шишков, 2007; Григорьев, 2009]. Применение ферментов в качестве биокатализаторов позволяет существенно расширить сырьевую базу пищевой промышленности и кормопроизводства, повысить глубину переработки сырья, создать новые виды пищевых продуктов и кормов, а также улучшить усвояемость и органолептические свойства известных [Кислухина, 2002]. Кроме того, переход от традиционных химических к биотехнологическим методам во многих случаях становится единственной возможностью для создания малоотходных технологий и экологически чистых производств [Тарабукин, 2009].

Целью нашей работы являлось изучение процессов и продуктов ферментативного гидролиза ферментным препаратом Целлолюкс А частично делигнифицированных образцов растительного сырья. Для исследования использовали образцы соломы гречихи, овса и сои, произрастающих в Алтайском крае. Данное растительное сырье содержит в своем составе сопоставимое с древесиной лиственных пород количество целлюлозы: соломы гречихи — 44,5%, овса — 40,6%, сои — 36,7%. В то время как содержание лигнина в отходах сельскохозяйственных растений несколько ниже (соломы гречихи — 16,8%, овса — 16,7%, сои — 15,7%, чем в древесине. Как известно, лигнин связан с полисахаридами растительной биомассы в прочную лигно-углеводную матрицу и является ингибитором ферментативного гидролиза. Лигнин существенно затрудняет доступность поверхности целлюлозных микрофибрилл для макромолекул ферментных белков.

В связи с этим для интенсификации процессов ферментативного гидролиза образцы растительного сырья последовательно обрабатывали сначала 0,2 н. раствором соляной кислоты, затем 1,0 н. раствором гидроксида натрия. Такая обработка позволяет существенно снизить количество лигнина в исследуемых образцах. Так, было установлено, что в образцах соломы гречихи осталось 9,6%, овса — 7,4%, сои — 9,1% лигнина, причем значительная часть лигнина удалена за счет второй ступени — щелочной предобработки. Было выявлено, что образцы соломы овса в большей степени подвергаются делигнификации, чем образцы соломы сои и гречихи. Вероятно, это связано с особенностями целлюлозных микрофибрилл и жесткостью клеточной стенки соломы гречихи.

Ингибирующие действие лигнина на процесс ферментативного гидролиза образцов соломы овса ферментным препаратом Целлолюкс А показано при определении количества редуцирующих веществ и медного числа образцов после гидролиза. На рисунке 1 приведены кинетические кривые процесса ферментативного гидролиза образцов исходной и частично делигнифицированной соломы овса. Процесс ферментации проводили в слабокислом ацетатно-буферном растворе с растворенным в нем ферментным препаратом при 55°С и постоянном перемешивании в течение 2, 3, 4, 6 и 24 ч.

Аналогичный ход кривых наблюдается и для значений медного числа образцов соломы овса (за 6 часов ферментативного гидролиза медное число увеличивается с 1,0 до 1,5 и не возрастает до конца процесса) и частично делигнифицированной соломы овса (за первые 6 часов медное число увеличивается с 1,6 до 2,7 и затем становится постоянным). На основании полученных результатов можно заключить, что основная часть процесса ферментативного гидролиза растительного сырья препаратом Целлолюкс А длится в течение 6 часов.

В этих же условиях проводили ферментативный гидролиз частично делигнифицированных образцов соломы гречихи и сои.

На рисунке 2 представлена динамика накопления редуцирующих веществ в ходе ферментативного гидролиза.

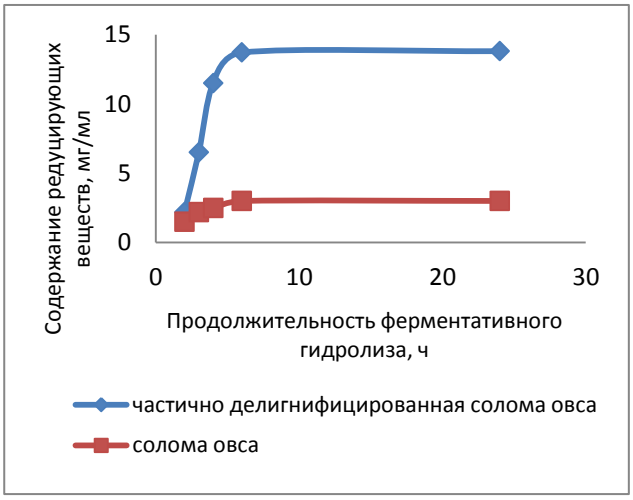


Рис. 1. Изменение содержания редуцирующих веществ в образцах соломы овса

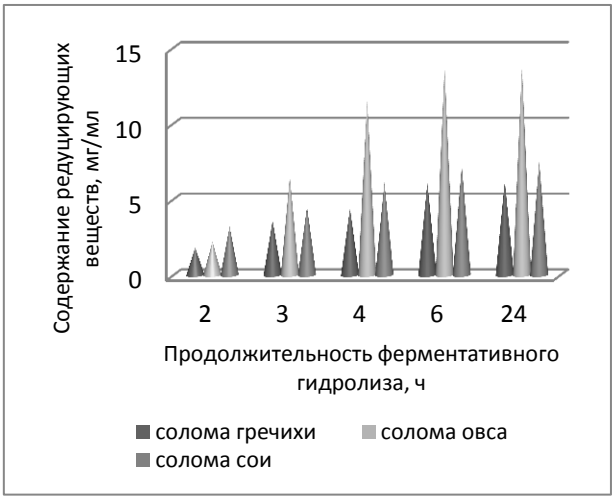


Рис. 2. Содержание редуцирующих веществ в гидролизатах отходов сельскохозяйственных растений

Как следует из приведенной диаграммы, частично делигнифицированные образцы непищевой биомассы сельскохозяйственных растений сои, овса и гречихи в разной степени подвергаются ферментативному гидролизу, однако основное количество редуцирующих веществ получено в течение первых 6 часов процесса. Это может быть связано с накоплением и адсорбцией на поверхности субстрата продуктов ферментативного гидролиза, за счет чего снижается доступность для ферментов к поверхности субстрата. Кроме того, установлено, что наибольший выход редуцирующих веществ дает частично делигнифицированная солома овса, а наименьший — частично делигнифицированная солома гречихи, что может быть связано с различием в содержании лигнина после предобработки и с особенностью морфологического строения клеточной стенки соломы гречихи.

Твердый остаток образцов растительного сырья после ферментативного гидролиза исследовали методом ИК-спектроскопии с целью установления степени кристалличности целлюлозы. Индекс кристалличности по О´Коннору и Нельсону определяли по отношению D_{1372}/D_{2900}. Значения индексов кристалличности приведены в таблице.

Значения индексов кристалличности целлюлозы образцов растительного сырья после ферментативного гидролиза

Продолжительность ферментации, ч	Индекс кристалличности		
	солома овса	солома сои	солома гречихи
2	0,37	0,52	0,38
3	0,41	0,53	0,47
4	0,42	0,54	0,48
6	0,44	0,55	0,49
24	0,45	0,56	0,51

В ходе ферментативного гидролиза степень кристалличности целлюлозосодержащих остатков образцов растительного сырья увеличивается. Это связано с тем, что ферментативному гидролизу прежде всего подвергаются преимущественно аморфные участки целлюлозных микрофибрилл, а высокоупорядоченные участки не могут быть гидролизованы в данных условиях.

Солома злаковых имеет большое значение в кормлении жвачных животных, однако еще мало изучен химизм ферментативного расщепления целлюлозосодержащей биомассы в рубце. Приведенные выше результаты позволили смоделировать процесс перевариваемости целлюлозы некоторых видов сельскохозяйственных отходов. В работе [Абатуров, 2005] установлено, что на перевариваемость целлюлозы в рубце оказывает влияние степень ее лигнификации, физические свойства кормов и другие факторы, такие как pH, наличие минеральных веществ и др.

Для оценки пищевой ценности биомассы сои, овса и гречихи использовали уравнение регрессии для перевариваемости сырой клетчатки в зависимости от содержания в корме лигнина, выведенное Аксельсоном и Шнайдером:

Перевариваемость клетчатки (%) = 87,8 – 0,83x, где x — содержание лигнина, %.

Проведенные расчеты показали, что частичная делигнификация биомассы гречихи позволила повысить перевариваемость с 73,9 до 79,8%, сои — с 74,8 до 80,2%, овса — с 73,9 до 81,7%. Расчетные данные коррелируют с определенным ранее содержанием редуцирующих веществ в гидролизатах образцов соломы.

Таким образом, для осуществления эффективной биотехнологической (ферментативной) переработки растительных отходов сельского хозяйства необходимо учитывать морфологические особенности клеточных стенок различных видов злаковых и бобовых растений, а именно содержание и распределение в слоях клеточной оболочки лигнина. Также необходимо осуществление предварительной частичной делигнификации и изменение (аморфизация) надмолекулярной структуры полисахаридов, образующих высокоупорядоченные участки микрофибрилл. Остатки растительного сырья после ферментативного гидролиза, в состав которых входит прежде всего высокоупорядоченная целлюлоза, найдут свое применение в целлюлозно-бумажной и других отраслях промышленности.

Библиографический список

Абатуров Б.Д. Кормовые ресурсы, обеспеченность пищей и жизнеспособность популяций растительноядных млекопитающих // Зоологический журнал. 2005. Т. 84, №10. С. 1251–1271.

Григорьев М.А. Разработка биотехнологических процессов комплексной конверсии растительного сырья и вторичных сырьевых ресурсов АПК с получением кормовой добавки для животноводства : автореф. дис. … канд. биол. наук. М., 2009. 20 с.

Кислухина О.В. Ферменты в производстве пищи и кормов. М., 2002. 336 с.

Тарабукин Д.В. Ферментативные технологии направленной биоконверсии целлюлозо- и крахмалсодержащего растительного сырья : автореф. дис. … канд. биол. наук. Уфа, 2009. 26 с.

Шишков В.А. Разработка технологии получения белковых препаратов из растительного сырья с применением ферментативных и мембранных процессов : автореф. дис. … канд. биол. наук. М., 2007. 22 с.

УДК 577.1

Н.Г. Базарнова, Е.Г. Меринова, И.В. Микушина

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ ОБРАЗЦОВ НЕКОТОРЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ КОРМОВ

Использование биотехнологической обработки растительных кормов направлено на повышение их питательной ценности и удешевление себестоимости животноводческой продукции. Изучен компонентный состав образцов растительных кормов: сено костречовое, силос кукурузный, сенаж разнотравный и сенаж злаково-бобовый. Осуществлен ферментативный гидролиз изучаемых образцов и оценена их перевариваемость. Показано, что образец сена костречового в большей степени подвержен ферментативному гидролизу и характеризуется большим значением перевариваемости.

Ключевые слова: ферментативный гидролиз, растительные корма, редуцирующие вещества, ЦеллоЛюкс А, целлюлоза, полисахариды, перевариваемость.

N.G. Bazarnova, E.G. Merinova, I.V. Mikushina

Altai State University (Barnaul, Russia)

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SAMPLES OF SOME PLANT FOOD

Using biotechnology processing vegetable feed aimed at increasing their nutritional value and cheaper cost of livestock production. Component structure studied samples of plant feed: kostretsovoe hay, corn silage, haylage and silage grass grassy beans. It carried out the enzymatic hydrolysis of the studied samples and evaluate their digestibility. It is shown that the pattern of hay kostretsovogo more susceptible to enzymatic hydrolysis, and characterized by a high digestibility.

Key words: enzymatic hydrolysis of vegetable feed, reducing agents, Tsellolyuks A, cellulose, polysaccharides, digestibility.

При непрерывно протекающих в организме процессах обмена веществ и энергии требуется постоянное расходование питательных веществ. Поскольку внутренние ресурсы организма ограничены, для поддержания жизнедеятельности, здоровья и продуктивных качеств животных необходимо поступление питательных веществ в составе корма.

Важная роль в кормлении телят принадлежит легкоусвояемым углеводам. Сахара являются питательными веществами не только для животных, но и для микроорганизмов, населяющих преджелудки жвачных животных, и используются ими при синтезе бактериального белка. Микроорганизмы рубца расщепляют сложные углеводы до простых сахаров, которые в дальнейшем сбраживаются до уксусной, масляной, пропионовой и других кислот. При оптимальном сахаро-протеиновом от-

ношении в рационах жвачных животных создаются благоприятные условия для размножения микрофлоры в преджелудках, улучшается синтез аминокислот, жирных кислот и витаминов группы В [Савронь, 1966].

В настоящее время недостаток легкоусвояемых сахаров в рационах жвачных животных составляет 35–47%. Дефицит сахаров в рационах снижает перевариваемость и усвояемость питательных веществ. Животные не реализуют свой генетический потенциал продуктивности.

В современных условиях одним из способов снижения себестоимости животноводческой продукции является снижение стоимости рациона. В связи с этим в структуре рациона все большее место занимают более дешевые корма, такие как ячмень, рожь, овес, горох, рапс, подсолнечный жмых и шрот. Включение данного сырья значительно повышает содержание в рационе клетчатки и трудногидролизуемых углеводов. При этом снижается энергетическая питательность корма, доступность аминокислот и других питательных веществ. Все это приводит к снижению интенсивности роста молодняка и потере продуктивности животных.

Учитывая важность данной проблемы и отсутствие возможности восполнения легкоперевариваемых сахаров в рационе телят, необходимо изыскивать возможности их производства из местного сырья. Одним из путей решения данной проблемы может выступить биотехнологическая переработка растительных кормов с целью повышения в них легкоперевариваемых сахаров.

Целью данной работы является анализ химического состава различных видов растительного корма, подвергнутого ферментативному гидролизу.

В природе существует большое количество микроорганизмов, продуцирующих ферменты, гидролизующие полисахариды до моносахаридов. Ферментативный гидролиз растительного сырья в промышленных масштабах весьма перспективен. Однако практическая реализация ферментативного гидролиза встречает серьезные трудности, что связано в первую очередь с особенностями кинетики этого процесса. Ферментативный гидролиз растительного сырья осложнен поликомпонентностью его химического состава и низкой реакционной способностью основного количества целлюлозы с высокоупорядоченной структурой [Торлопов, 2007].

В кормовом балансе травы приобретают все большее значение. Химия углеводов этого сырья, составляющих более 50% от его веса, изучена мало. Кормовая ценность трав, перевариваемость, различное поведение при силосовании, сушке зависит от состава, структуры полисахаридов и других компонентов [Тарабукин, 2007].

В качестве объектов исследования использовали распространенные растительные корма: сено кострецовое, силос кукурузный, сенаж злаково-бобовый и сенаж разнотравный, приготовленные по традиционной общепринятой технологии. Данное растительное сырье содержит в своем составе как легко-, так и трудногидролизуемые полисахариды. Наибольшее содержание легкогидролизуемых полисахаридов обнаружено в образце сена кострецового (27,28%), сопоставимым содержанием легкогидролизуемых полисахаридов характеризуются образцы силоса кукурузного (26,26%) и сенажа злаково-бобового (24,45%), а минимальным — образцы сенажа разнотравного (13,63%). Трудногидролизуемые полисахариды составляют около 30% от массы образцов сена кострецового (30,04%) и силоса кукурузного (30,88%), а в образцы сенажа злаково-бобового и сенажа разнотравного содержат 17,48 и 21,18% трудногидролизуемых полисахаридов соответственно.

В ходе исследования были количественно определены содержания лигнина целлюлозы в образцах растительного корма (табл. 1), от которых зависит его перевариваемость.

Таблица 1

Содержание целлюлозы и лигнина в образцах растительных кормов, %

Вид растительного корма	Содержание целлюлозы	Содержание лигнина
Сено кострецовое	27,2	26,4
Силос кукурузный	21,9	36,8
Сенаж злаково-бобовый	15,6	37,9
Сенаж разнотравный	16,7	44,2

Наиболее лигнифицированным из изучаемых образцов растительного корма является сенаж разнотравный (44%). Наименьшее содержание лигнина — в сене кострецовом (26%). Полученные результаты позволяют предполагать, что наибольшей пищевой и энергетической ценностью обладает сено кострецовое.

Аксельсоном и Шнайдером предложено уравнение для расчета перевариваемости жвачными животными растительного корма в зависимости от содержания в нем лигнина [Бугаков, 2006], согласно которому переваримость = 87,8 – 0,83x, где x — содержание лигнина,%. В соответствии с данным уравнением наибольшей перевариваемостью обладает сено кострецовое (66%), остальные корма имеют расчетное значение переваримости еще меньше: силос кукурузный — 57%, сенаж злаково-бобовый — 56%, сенаж разнотравный — 51%.

Для решения проблемы повышения содержания моносахаров в растительных кормах предпринята попытка биотехнологической переработки изучаемых видов растительных кормов путем ферментации в ацетатно-буферном растворе при температуре 40 °С и постоянном перемешивании. Использовали ферментный препарат грибного происхождения ЦеллоЛюкс-А, который содержит в своем составе комплекс ферментов целлюлазно-глюконазно-ксилоназного действия. Ферментацию проводили 2, 3, 4, 6, 8, 24 часа. Эффективность применения ферментативного гидролиза оценивали по динамике накопления редуцирующих веществ (табл. 2) и значениям медного числа.

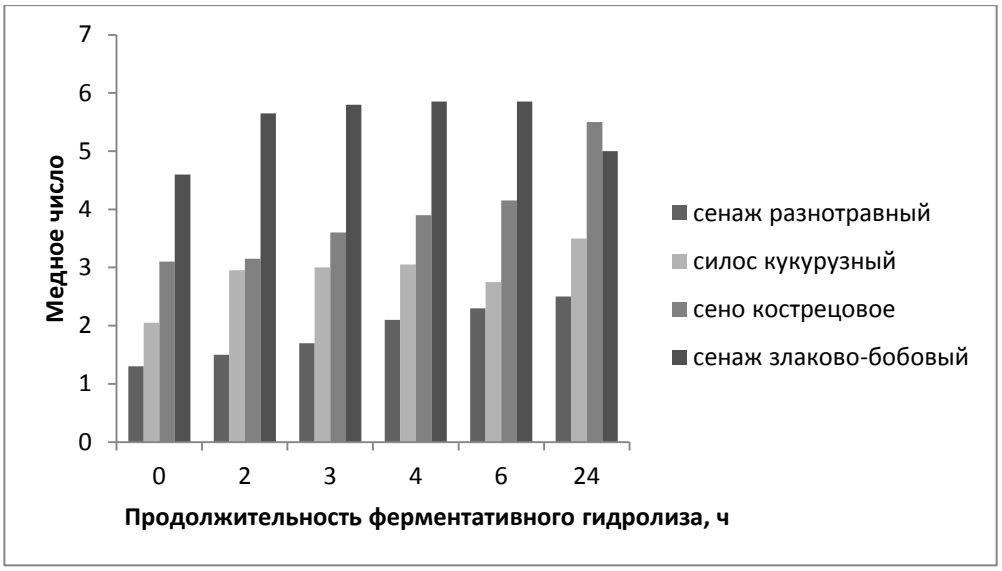
Таблица 2

Динамика накопления редуцирующих веществ в ходе ферментативного гидролиза образца сена кострецового

Длительность ферментативного гидролиза, ч	2	3	4	6	12
Содержание редуцирующих веществ, мг/мл	28	28,4	29,2	29,6	29,6

Как следует из представленных результатов, содержание редуцирующих веществ после двух часов ферментативного гидролиза практически соответствует содержанию легкогидролизуемых полисахаридов в образце сена кострецового. Последующая ферментация повышает выход редуцирующих веществ на 1,6%, после 6 часов ферментации не происходит дальнейшего накопления редуцирующих веществ. Аналогичные процессы наблюдали при ферментации других видов растительного корма.

Наиболее наглядно влияние ферментов можно отследить по изменению значения медного числа образцов, подвергнутых ферментации препаратом ЦеллоЛюкс-А. Частично деструктированные ферментами целлюлозные волокна сохраняются в виде твердого остатка и характеризуются появлением значительного числа концевых альдегидных групп, о количестве которых можно судить по значениям медного числа (рис.).



Изменение медного числа (г меди на 100 г абсолютно сухой целлюлозы) в ходе ферментативного гидролиза различных видов растительных кормов

Как следует из представленных данных, существенные деструктивные изменения целлюлозы в составе растительных кормов (с образованием альдегидных групп) в процессе ферментативного гидролиза происходят в первые 6 часов ферментации. Однако исследуемые образцы изначально различаются по значениям медного числа, и сравнить выраженность ферментативного влияния на образование концевых альдегидных групп можно, только оценив максимальный прирост величины медного числа. Так, для образца «сено кострецовое» медное число увеличилось на 2,4, для образца «сенаж злаково-бобовый» — на 2,25, для образца «силос кукурузный» — на 1,4 и для образца «сенаж разнотравный» — на 1,2 г/100 г абсолютно сухой целлюлозы. Таким образом, можно заключить, что наиболее эффективно происходит взаимодействие ферментов с полисахаридами, в частности, с целлюлозой, с сеном кострецовым.

В результате проделанной работы можно сделать несколько выводов.

Во-первых, широко используемые в животноводстве растительные корма для повышения их питательной ценности и перевариваемости необходимо подвергать биотехнологической переработке.

Во-вторых, установлено, что максимальный выход водорастворимых редуцирующих веществ (сахаров) достигается через 6 часов от начала реакции ферментативного гидролиза препаратом ЦеллоЛюкс-А, при более длительной ферментации не происходит увеличения содержания редуцирующих сахаров, что, вероятно, связано с ингибированием ферментов продуктами реакции.

В-третьих, изученные образцы растительных кормов в разной степени подвержены ферментативному гидролизу, а именно, наблюдали увеличение деструктивных процессов полисахаридов в ряду: силос кукурузный < сенаж разностравный < сенаж злаково-бобовый < сено кострецовое.

Полученные результаты позволяют рекомендовать использование подвергнутого ферментативному гидролизу сена кострецового для повышения продуктивности жвачных животных.

Библиографический список

Бугаков Ю.Ф., Пиденко Г.Ф. Использование углеводной кормовой добавки, полученной из зерна пшеницы и ржи в рационах лактирующих коров : методические рекомендации. Новосибирск, 2006. 21 с.

Савронь Е.С. Биохимия животных : учебное пособие. М., 1966. 502 с.

Тарабукин Д.В. Ферментативный гидролиз как способ повышения питательной ценности трудноусваиваемых компонентов кормов // Актуальные проблемы биологии и экологии : материалы докладов I Всероссийской Коми республиканской молодежной научной конференции. Сыктывкар, 2007. С. 246–249.

Торлопов М.А., Тарабукин Д.В., Фролова С.В., Щербакова Т.П., Володин В.В. Ферментативный гидролиз порошковых целлюлоз, полученных различными методами // Химия растительного сырья. 2007. №3. С. 69–74.

УДК 661.725.031.74:612.015.161

О.В. Байбакова

Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА БИОЭТАНОЛА ОТ СТАДИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРЕДОБРАБОТКИ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА

Установлено, что химическая предобработка плодовых оболочек овса раствором азотной кислоты в одну стадию позволяет получать субстрат с высокой реакционной способностью к ферментативному гидролизу. Получен биоэтанол на средах ферментативных гидролизатов лигноцеллюлозного материала и технической целлюлозы плодовых оболочек овса с помощью штамма *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1693.

Ключевые слова: плодовые оболочки овса, лигноцеллюлозный материал, техническая целлюлоза, ферментативный гидролиз, биоэтанол.

O.V. Baibakova

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

BIOETHANOL YIELD AS A FUNCTION OF OAT HULL CHEMICAL PRETREATMENT STAGES

The chemical pretreatment of oat hulls with dilute nitric acid in one stage was found to afford a substrate with high reactivity to enzymatic hydrolysis. Bioethanol was obtained on enzymatic hydrolyzate broths of lignocellulosic material and oat hull pulp using the Saccharomyces cerevisiae Y-1693 strain.

Key words: oat hulls, lignocellulosic material, pulp, enzymatic hydrolysis, bioethanol.

В настоящее время стоит актуальная задача поиска альтернативных источников энергии, особенно возрос интерес к получению биоэтанола из непищевого сырья [Jordan, 2012, p. 241; Somerville, 2010, p. 791]. Получение топливного биоэтанола или «безакцизного» этанола как промежуточного продукта для дальнейшей химической трансформации из быстровозобновляемого целлюлозосодержащего непищевого сырья является не решенной, но активно исследуемой во всем мире фундаментальной проблемой. Известно, что за рубежом биоэтанол получают из пищевого сырья (сахарного тростника, кукурузы). Вопрос о возможности получения топливного биоэтанола, или «безакцизного» этанола, как промежуточного продукта для дальнейшей химической трансформации из российского зерна или картофеля не может обсуждаться в связи с высокой стоимостью сырья и необходимостью обеспечения продовольственной безопасности страны. Россия является богатейшей страной древесного и недревесного сырья, особенно быстровозобновляемого, к которому относятся отходы сельского хозяйства. В данной работе в качестве сырья использо-

вались плодовые оболочки овса — многотоннажный отход сельского хозяйства. Ранее были описаны работы по получению биоэтанола из энергетической злаковой культуры мискантуса [Байбакова, 2015, с. 2783; Baibakova, 2015, p. 69].

В качестве субстратов для ферментативного гидролиза использовалась техническая целлюлоза из плодовых оболочек овса, полученная на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН химической предобработкой сырья в две стадии: на первой стадии разбавленным раствором азотной кислоты, а на второй стадии разбавленным раствором гидроксида натрия. С целью упрощения стадий предобработки был получен субстрат — лигноцеллюлозный материал химической обработкой плодовых оболочек овса в одну стадию разбавленным раствором азотной кислоты. Под действием азотной кислоты происходит не только разрушение образованной полимерами матрицы и частичный гидролиз гемицеллюлоз, но и окислительное нитрование лигнина с последующим его гидролизом в низкомолекулярные продукты [Никитин, 1962, с. 457–458].

Целью данной работы являлась биоконверсия плодовых оболочек овса в субстраты, пригодные для ферментативного гидролиза, и последующее спиртовое брожение полученных ферментативных гидролизатов для синтеза биоэтанола. Характеристики используемых субстратов для ферментативного гидролиза представлены в таблице 1.

В работе использовали ферментные препараты «ЦеллоЛюкс-А» (производитель ПО «Сиббиофарм», Бердск) и «Брюзайм BGX» (производитель «Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A.», Польша, для компании «Diadic International Inc.», США). Препарат «ЦеллоЛюкс-А» позиционируется на рынке как целлюлаза для расщепления некрахмалистых полисахаридов, «Брюзайм BGX» — как гемицеллюлаза.

Ферментативный гидролиз проводили в водной среде при pH 4,7 (корректировку осуществляли ортофосфорной кислотой и гидроксидом аммония) и при непрерывном перемешивании с частотой 150 мин$^{-1}$. Температура гидролиза составила 46 °С, продолжительность — 72 ч. Мультиэнзимную композицию вносили следующим образом: «ЦеллоЛюкс-А» в расчете 0,04 г фермента на 1 г субстрата и «Брюзайм BGX» в расчете 0,1 г фермента на 1 г субстрата.

Таблица 1

Характеристики субстратов, полученных из плодовых оболочек овса

Субстрат	М.д., % в пересчете на а.с.с.	
	лигноцеллюлозный материал	техническая целлюлоза
Целлюлоза по Кюршнеру	71,9	–
α-целлюлоза	–	90,5
Кислотонерастворимый лигнин	12,4	0,8
Пентозаны	8,3	3,0
Зольность	7,4	5,7

Полученные ферментативные гидролизаты стерилизовали методом автоклавирования при 0,5 атм в течение 40 мин. Спиртовое брожение осуществляли с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (Москва). Доза инокулята составила 10%. Брожение проводили в анаэробных условиях при 28 °С в течение трех суток.

Концентрацию редуцирующих веществ в пересчете на глюкозу определяли спектрофотометрически с помощью реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (спектрофотометр «UNICO» UV-2804, США) в пересчете на глюкозу. Выход редуцирующих веществ рассчитан как отношение массы редуцирующих веществ к массе субстрата, с учетом коэффициента, связанного с присоединением молекулы

воды к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев в результате ферментативного гидролиза. Активную кислотность измеряли потенциометрически (pH-метр Checer-1). Крепость бражек (объемная доля спирта) определяли ареометром для спирта в дистилляте, полученном после предварительной перегонки спирта из бражки, в соответствии с методикой [ГОСТ Р 51135-2003, 2003, с. 9–11].

По крепости полученных бражек и концентрации редуцирующих веществ в исходной среде рассчитывали выход биоэтанола. Теоретическая концентрация этанола рассчитана по стехиометрическому уравнению брожения, выход биоэтанола — как отношение экспериментальной концентрации этанола к теоретической. Полученные образцы биоэтанола концентрировали методом простой перегонки, дополнительной очистки не проводили. Анализ этанола выполнен методом газожидкостной хроматографии по [ГОСТ Р 51786-2001, 2001, с. 2–5] на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором «Кристалл 2000М» фирмы «СКБ Хроматэк».

Полученные результаты показали, что наибольшей реакционной способностью обладает лигноцеллюлозный материал, его гидролиз сопровождался большим накоплением редуцирующих веществ в гидролизате: 48,8 г/л в сравнении с 41,7 г/л для технической целлюлозы. Это можно объяснить химическим составом используемых субстратов. При химической предобработке плодовых оболочек овса в одну стадию выше массовая доля пентозанов, чем при химической предобработке в две стадии (8,3% для лигноцеллюлозного материала и 3,0% для технической целлюлозы, см. таблицу 1). Следовательно, сумма гидролизуемых компонентов для лигноцеллюлозного материала выше, чем для технической целлюлозы.

Таким образом, химическая предобработка плодовых оболочек овса в одну стадию позволяет получать субстрат с высокой реакционной способностью к ферментативному гидролизу, вторую стадию химической предобработки можно исключить.

Таблица 2

Результаты ферментативного гидролиза и спиртового брожения

Показатель	Лигноцеллюлозный материал	Техническая целлюлоза
Концентрация субстрата, г/л	60,0	60,0
Максимальная концентрация редуцирующих веществ на стадии ферментативного гидролиза, г/л	48,8	41,7
Крепость бражки, об. %	2,6	2,4
Остаточная концентрация редуцирующих веществ в бражке, г/л	9,3	10,0
Выход этанола, % от максимальной концентрации редуцирующих веществ	83,9	88,9
Выход этанола из 1 т сырья (плодовых оболочек овса), дал	15,3	12,2

При использовании в качестве субстрата лигноцеллюлозного материала плодовых оболочек овса синтезируется биоэтанол с выходом 83,9% от редуцирующих веществ, выход этанола из 1 т плодовых оболочек овса составляет 15,3 дал, а при использовании технической целлюлозы плодовых оболочек овса этанол синтезируется с выходом 88,9% от редуцирующих веществ, выход этанола из 1 т плодовых оболочек овса составляет 12,2 дал.

Полученные образцы этанола сконцентрированы методом простой перегонки, дополнительной очистке не подвергались. Оценка качества полученных образцов биоэтанола была выполнена методом газожидкостной хроматографии, полученные результаты приведены в таблице 3.

Таблица 3

Содержание примесей в образцах биоэтанола из плодовых оболочек овса

Показатель	Лигноцеллюлозный материал	Техническая целлюлоза
Массовая концентрация альдегидов в пересчете на безводный спирт, мг/дм^3	3800	1000
Массовая концентрация эфиров в пересчете на безводный спирт, мг/дм^3	90	1600
Массовая концентрация сивушного масла в пересчете на безводный спирт, мг/дм^3	1700	1100
Массовая доля метанола в пересчете на безводный спирт, об. %	0,005	0,002

В опытных образцах последовательность выхода обнаруженных веществ соответствует действующей нормативной документации [ГОСТ 32039-2013, с. 4–5]. Присутствие в следовых количествах ацетона, 2-бутанола и кротональдегида идентифицируют этанол как непищевой [ГОСТ Р 51786-2001, 2001, с. 8].

Таким образом, ферментативный гидролиз лигноцеллюлозного материала и технической целлюлозы плодовых оболочек овса позволяет получить доброкачественные гидролизаты с низким содержанием вредных примесей и обусловливает низкое содержание побочных и вторичных продуктов спиртового брожения в бражках.

Библиографический список

Байбакова О.В. Биоконверсия лигноцеллюлозного субстрата мискантуса в этанол // Фундаментальные исследования. 2015. №2, ч. 13. С. 2783–2786.

ГОСТ 32039-2013. Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности.

ГОСТ Р 51786-2001. Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности.

ГОСТ Р 51135-2010. Изделия ликероводочные. Правила приемки и методы анализа.

Никитин Н.И. Химия древесины и целлюлозы. М. ; Л., 1962. С. 457–458.

Baibakova O.V., Skiba E.A. Biotechnological Aspects of Ethanol Biosynthesis from Miscanthus // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2015. Vol. 5, No. 1. P. 69–74.

Jordan D.B., Bowman M.J., Braker J.D., Dien B.S., Hector R.E., Lee C.C., Mertens J.A., Wagschal K. Plant cell walls to ethanol // Biochem. J. 2012. V. 442. P. 241–252.

Somerville C. Feedstocks for lignocellulosic biofuels // Science. 2010. №329. P. 790–792.

УДК 663.3:663.15:663.264

Е.С. Баташов

Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова (Бийск, Россия)

ВОЗМОЖНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ НАТУРАЛЬНОГО УКСУСА ИЗ СЫРЬЯ АЛТАЙСКОГО КРАЯ

Ассортимент натуральных уксусов в Российской Федерации очень мал. Актуальной задачей является расширение ассортимента уксусов на основе местного российского сырья. С учетом больших сырьевых запасов в Алтайском крае в качестве перспективного сырья для производства новых уксусов можно рассматривать ягоды облепихи, жимолости, черноплодной рябины, а также мед. Подобраны оптимальные способы

и режимы получения виноматериалов и уксусов. Определены физико-химические показатели полученных виноматериалов и уксусов. Изучен состав биологически активных соединений (полифенолов, флавоноидов, катехинов и антоцианов) и динамика их изменения в процессе получения уксуса из ягод и меда. Произведена оценка соответствия полученных уксусов стандартам. Оптимальным сырьем для производства натурального уксуса из сырья алтайского края являются облепиха и мед.

Ключевые слова: уксус, облепиха, жимолость, черноплодная рябина, мед, полифенолы, флавоноиды, катехины, антоцианы.

E.S. Batashov

Biysk Technological Institute (branch) Altai State Technical University I.I. Polzunov (Biysk, Russia)

THE POSSIBILITIES OF NATURAL VINEGAR PRODUCTION FROM THE RAW MATERIALS OF ALTAY REGION

The assortment of natural vinegars in Russia is poor. The problem of vinegar assortment expanding based on local raw materials is actual. Taking into account the big product stock in Altay region sea-buckthorn, honeysuckle, black chokeberry and honey can be regarded as perspective raw materials for vinegar manufacturing. Also the optimal ways of wine materials and vinegars manufacturing were chosen and their physicochemical parameters were defined. The content of bioactive substances (polyphenols, flavonoids, catechins and proanthocyanidins) was observed as well as their dynamic changing during the process of production from berries and honey. The results were defined in respect of the standards. The optimal Altay raw material for the vinegar production tuned out to be sea-buckthorn and honey.

Key words: vinegar, sea buckthorn, honeysuckle, black chokeberry, honey, polyphenols, flavonoids, catechins, proanthocyanidins.

Материалы и методы. В качестве основного сырья были взяты: черноплодная рябина сорта «Алтайская крупноплодная», урожай 2013 г.; облепиха сорта «Новость Алтая», урожай 2013 г.; жимолость сорта «Голубое веретено», урожай 2013 г.; цветочный мед, сбор 2013 г.

В качестве возбудителей спиртового брожения при сбраживании сырья использовались активные сухие винные дрожжи Saccharomyces vini расы «ТУРБО-24». Процесс получения виноматериала осуществлялся способом «плавающей шапки». Брожение осуществлялось при температуре 21 ± 1 °С.

Контроль процесса брожения осуществлялся определением содержания доли этилового спирта и сахаров в конечном продукте. Процесс получения уксуса проводили глубинным способом в ферментере объемом 5 литров марки Biostat B plus фирмы Sartorius. Скорость мешалки 1000 об/мин. Расход воздуха 30 л/мин. Объем культуральной жидкости — 4 литра. Культивирование проводили при температуре 30 ± 1 °С.

В качестве чистой культуры уксуснокислых бактерий (УКБ) использовали Acetobacter aceti. Контроль процесса получения уксуса осуществлялся путем определения титруемой кислотности в пересчете на уксусную кислоту и массовой доли этилового спирта.

Содержание сахара определяли по стандартной методике [Руководство Р 4.1.1672-03, с. 45].

Содержание титруемой кислотности определяли по стандартной методике [ГОСТ Р 51621-2000]. Содержание этилового спирта определяли газохроматографическим методом. Определение спирта проводили на хроматографе типа «Кристалл 5000» [ГОСТ Р 51653-2000].

Флавоноиды определяли флуориметрическим методом [Руководство Р 4.1.1672-03, с. 127], полифенолы — колориметрическим методом определения с реактивом Фолина — Чокальтеу [Руководство Р 4.1.1672-03, с. 124], антоцианы — ме-

тодом дифференциальной спектрофотометрии с алюминием хлоридом на спектрофотометре «Shimadzu UV-2401 PC» [Руководство Р 4.1.1672-03, с. 107]. Дубильные вещества определяли титрованием раствора перманганата калия до золотисто-желтого окрашивания [Руководство Р 4.1.1672-03, с. 132].

Обсуждение результатов. На первом этапе нами был проведен анализ исходного сырья. Результаты представлены в таблице 1. На их основании путем разбавления водой получали сусло с титруемой кислотностью 0,6–0,7% и вносили расчетное количество сахара, которое позволило получить виноматериал с содержанием спирта 12 об%.

Динамика образования спирта и расходования сахара в процессе брожения представлены на рисунках 1 и 2.

Таблица 1

Физико-химические показатели исходного сырья, %

Показатели	Исходное сырье			
	черноплодная рябина	жимолость	облепиха	мед
Массовая концентрация сахаров	8,8	7,5	6,8	69,0
Массовая концентрация титруемых кислот в пересчете на яблочную кислоту	1,2	3,3	1,4	1,7
Содержание сухих веществ	24,6	17,6	20,2	85,2
Содержание полифенолов в пересчете на галловую кислоту	0,12	0,03	0,27	-
Содержание катехинов	9,7	2,4	0,2	-
Содержание флавоноидов в пересчете на рутин	0,9	1,2	0,1	-
Содержание антоцианов	4,37	4,01	0,14	-

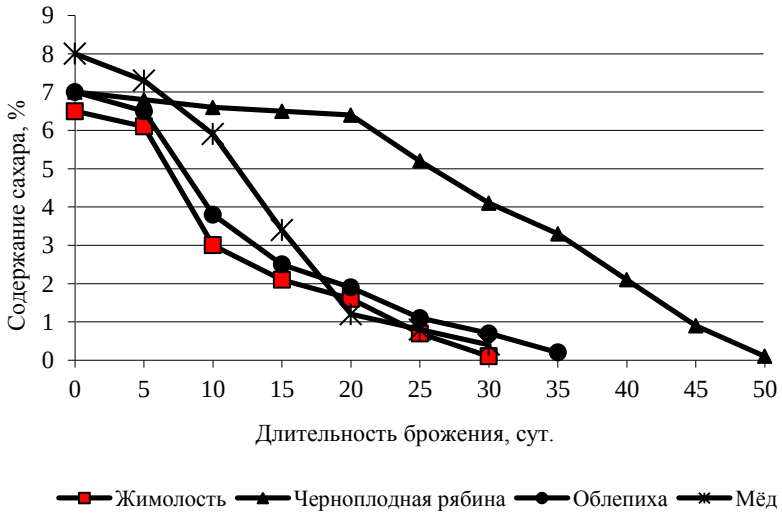


Рис. 1. Динамика расходования сахара в процессе брожения

Как видно из данных, представленных на рисунках 1 и 2, скорость сбраживания сахаров в спирт максимальная при получении виноматериала из облепихи и меда. Самое длительное сбраживание было отмечено на черноплодной рябине.

Характеристики полученных виноматериалов представлены в таблице 2.

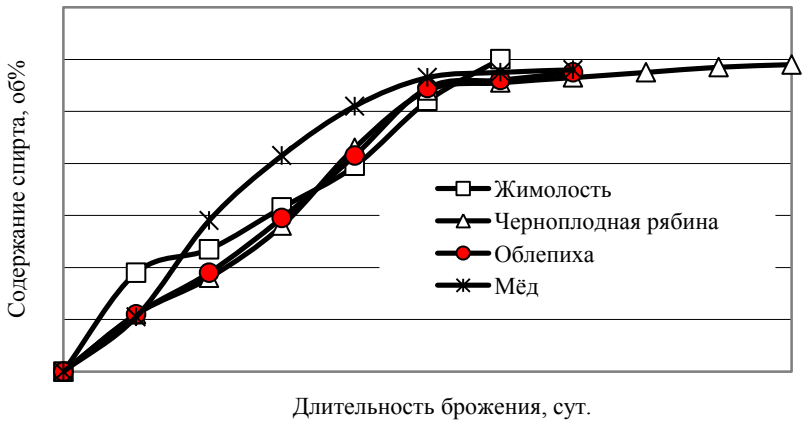


Рис. 2. Динамика накопления спирта в процессе брожения

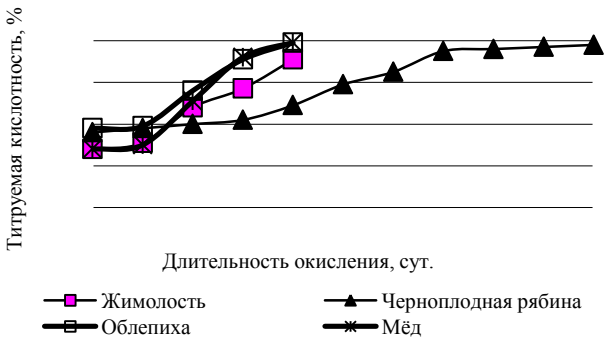
Таблица 2

Физико-химические показатели полученных виноматериалов

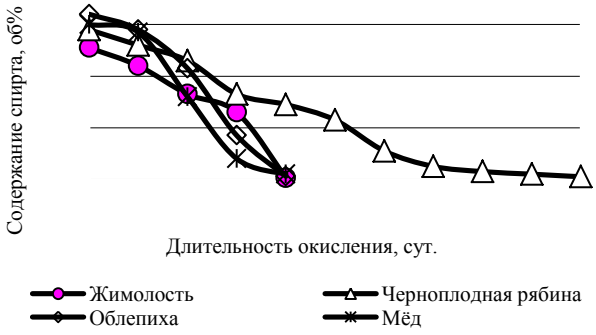
Показатели	Исходное сырье			
	черноплодная рябина	жимолость	облепиха	мед
Содержание спирта, %об.	11,8	12,0	11,5	11,6
Массовая концентрация сахаров, %	0,1	0,1	0,2	1,9
Массовая концентрация титруемых кислот в пересчете на яблочную кислоту, %	0,6	1,3	0,7	0,5
Содержание полифенолов в пересчете на галловую кислоту, %	0,077	0,082	0,135	-
Содержание катехинов, %	0,26	0,17	0,12	-
Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, %	0,003	0,026	0,003	-
Содержание антоцианов, %	0,07	0,23	0,09	-

Исходя из полученных данных в виноматериале происходит существенное снижение содержания биологически активных веществ в сравнении с исходной ягодой.

На следующем этапе из полученных виноматериалов были получены образцы натуральных уксусов. Процесс образования уксусной кислоты в процессе окисления этилового спирта в образцах виноматериалов представлен на рисунке 3.



а)



б)

Рис. 3. Динамика окисления спирта (а) и накопления уксусной кислоты (б)

Как видно из данных, представленных на рисунке 3, скорость окисления спирта в уксусную кислоту максимальна при получении продукта из облепихи и меда (за четверо суток). Самый длительный процесс был отмечен при окислении виноматериала из черноплодной рябины. Замедление связано с высоким содержанием биологически активных веществ, обладающих мощной антиоксидантной активностью, что подтверждается данными таблицы 3.

Таблица 3

Физико-химические показатели полученных уксусов, %

Показатели	Исходное сырье			
	черноплодная рябина	жимолость	облепиха	мед
Массовая концентрация титруемых кислот в пересчете на уксусную кислоту	9,8	9,1	9,8	9,9
Содержание спирта	0,1	0,1	0,1	0,2
Содержание полифенолов в пересчете на галловую кислоту	0,04	0,47	0,08	-
Содержание катехинов	0,15	0,09	0,04	-
Содержание флавоноидов в пересчете на рутин	-	0,021	0,001	-
Содержание антоцианов	0,01	0,13	-	-

Наибольшее количество полифенолов, катехинов и антоцианов содержится в уксусах из жимолости и черноплодной рябины.

Полученные образцы уксусов из алтайского сырья соответствуют основным показателям: массовой концентрации титруемых кислот и содержанию остаточного спирта согласно ГОСТ 32097-2013. «Уксусы из пищевого сырья. Общие технические условия».

Сравнивая данные по содержанию биологически активных веществ в исходном сырье, виноматериалах и уксусах (табл. 1–3), можно сделать вывод, что в процессе получения уксуса происходит значительное снижение веществ, обладающих антиоксидантной активностью.

Выводы:

- получены образцы уксуса глубинным способом из облепихи, жимолости, черноплодной рябины и меда;
- установлено значительное снижение содержания биологически активных веществ в процессе производства уксуса;
- оптимальным сырьем Алтайского края для производства уксуса можно считать облепиху и мед.

Библиографический список

ГОСТ Р 51621–2000. Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Методы определения массовой концентрации титруемых кислот. Введ. 27.06.2000. М., 2000. 4 с.

ГОСТ Р 51653-2000. Алкогольная продукция и сырье для ее производства. Метод определения объемной доли этилового спирта. Технические требования. Введ. 2001-07-01. М., 2001. 6 с.

Руководство Р 4.1.1672-03. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Введ. 30.06.2003. М., 2004. 204 с.

УДК 663:664.6/.7(0.45)

Г.Ю. Бахтин[1], Е.Ю. Егорова[2]

[1]ООО «Специалист» (Бийск, Россия)

[2]Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ БРОЖЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ ХЛЕБА ПРИ ВНЕСЕНИИ ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН

Обсуждаются особенности технологических свойств теста и потребительских характеристик готовой хлебобулочной продукции при внесении в качестве источников пищевых волокон нетрадиционного растительного сырья — скорлупы и околоядровой пленки кедровых орехов (семян *Pinus sibirica Du Tour*). Показано, что закономерности брожения-созревания теста и формирования органолептических показателей качества выпеченного хлеба имеют общие основы с технологией производства хлеба на грубом зерновом сырье.

Ключевые слова: хлеб, брожение, пищевые волокна, технология, вторичные сырьевые ресурсы, кедровые орехи.

G.Yu. Bakhtin[1], E.Yu. Egorova[2]

[1]OOO «Specialist» (Biysk, Russia)

[2]Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

FEATURES OF FERMENTATION PROCESSES IN THE TECHNOLOGY OF BREAD WHEN MAKING DIETARY FIBER

This paper discusses the features of the technological properties of dough and consumer characteristics of the finished bakery products when making as sources of dietary fiber non-traditional plant materials — the shell and about sound membrane of cedar nuts (seeds of Pinus sibirica Du Tour). It is shown that the patterns of fermentation-maturation of the dough and the formation of organoleptic indicators of quality of baked bread have a common basis with the technology of bread production on coarse grain raw material.

***Key words*:** bread, fermentation, dietary fiber, technology, secondary raw materials resources, cedar nuts.

К пищевым волокнам (dietary fiber) принято относить несколько групп химических компонентов, обладающих выраженным физиологическим действием и имеющих преимущественно растительное происхождение — это полимеры моносахаридов и их производных (клетчатка, гемицеллюлозы, глюкозамины), лигнин и пектиновые вещества [Бахтин, 2013; Радченко, 2010]. Для обогащения хлеба пищевыми волокнами пригодно разнообразное по составу и свойствам сырье: дробленое и цельносмолотое зерно, плодово-ягодные и овощные пюре и порошки, очищенные пектины и клетчатка [Голубев, 2003; Рик, 2011; Hu, 2009]. Пищевые волокна благодаря своей водосвязывающей способности обеспечивают увеличение выхода продукции хлебопекарного производства и способствуют улучшению структуры мякиша хлеба, однако внесение некоторых из них ведет к снижению водопоглощающей способности муки, разжижению теста, снижению пористости изделий, требуя внесения специальных ферментных препаратов. Нерастворимые пищевые волокна — клетчатка и лигнин — в дозировке более 3–7% тормозят брожение теста и вызывают ухудшение качества изделий, в том числе плохо развитую пористость, повышенную кислотность, уплотнение и потемнение мякиша [Голубев, 2003; Тарасова, 2009; Hu, 2009].

Скорлупу и околоплодную оболочку (околоядровую пленку) — побочные продукты переработки кедровых орехов — можно отнести к перспективным видам сырья, богатого нерастворимыми пищевыми волокнами. Согласно расчетным данным, 10–15 г воздушно-сухого сырья околоплодной оболочки либо 8–12 г скорлупы позволяют обеспечить удовлетворение суточной потребности в пищевых волокнах на 30–45% [Бахтин, 2013]. После измельчения на промышленной мельнице типа Toper TKS-365 средний размер частиц скорлупы и околоплодной оболочки приближается к размеру частиц обойной муки и находится в диапазоне 0,01–0,3 мм, что дает возможность их смешивания с мукой практически в любых пропорциях.

Целью настоящей работы стало исследование влияния скорлупы и околоплодной оболочки кедровых орехов как источников пищевых волокон на реологические свойства теста и процессы брожения в технологии производства хлеба. За базовую в работе принята рецептура пшеничного хлеба первого сорта [Сборник рецептур, 2004]. Тесто готовили опарным способом, введение скорлупы и околоплодной оболочки осуществляли путем замены определенной части предусмотренной рецептурой пшеничной муки; для равномерного распределения сырья в рецептурной смеси и его ферментации в тесте скорлупу и околоплодную оболочку предварительно измельчали и смешивали с мукой.

С целью определения оптимального соотношения пшеничной хлебопекарной муки и околоплодной оболочки (скорлупы) кедровых орехов проведено исследование физических и реологических характеристик модельных смесей пшеничной муки и добавленного сырья. Скорлупу и околоплодную оболочку добавляли в количестве 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5 и 15,0% к массе муки; контролем служили пробы пшеничной муки и теста без внесения скорлупы и околоплодной оболочки. Расчет необходимой для фариографа навески муки (или смеси муки со скорлупой / околоплодной оболочкой) проведен в соответствие с ГОСТ Р 51404-99.

Как показывают результаты исследования, характер изменения фариограмм определяется дозировкой околоплодной оболочки и скорлупы в модельной смеси: с повышением дозировки наблюдается незначительный пик повышения водопоглотительной способности и снижения скорости разжижения теста (в пределах 7,5% для околоплодной оболочки и 5,0% для скорлупы), после чего проявляется тенденция к ухудшению реологических свойств (табл.).

Реологические свойства теста из муки первого сорта при добавлении скорлупы и околоплодной оболочки кедровых орехов

Показатель	Дозировка вводимого сырья, % к массе муки						
	0	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0
Околоплодная оболочка							
Водопоглотительная способность, %	62,1	62,5	63,5	64,3	63,8	60,1	58,5
Время образования теста, мин	4,0	4,5	5,0	5,0	4,0	3,5	3,0
Устойчивость теста, мин	5,0	5,0	5,5	6,5	5,5	4,5	4,0
Разжижение теста, ед. приб.	140	146	151	144	142	139	127
Скорлупа							
Водопоглотительная способность, %	62,1	62,4	63,6	62,8	59,2	56,3	52,8
Время образования теста, мин	4,0	4,5	5,0	4,5	4,0	3,0	2,5
Устойчивость теста, мин	5,0	5,5	6,0	5,0	4,5	4,0	3,5
Разжижение теста, ед. приб.	140	142	144	141	135	129	125

Основными компонентами скорлупы и околоплодной оболочки кедровых орехов являются нерастворимые пищевые волокна — клетчатка и лигнин, участвую-

щие в связывании воды и формировании белково-углеводного каркаса теста, но не обладающие способностью к неограниченному набуханию и не способные существенно повлиять на водопоглотительную способность муки и скорость разжижения теста, что в условиях хлебопекарного производства считается положительным моментом. При использовании околоплодной оболочки изменения в водопоглотительной способности сухой мучной смеси и скорости разжижения приготовленного теста менее выражены, чем при использовании скорлупы. Выявленные различия в реологии теста определяются более высоким содержанием в скорлупе лигнина, не обладающего, в отличие от целлюлозы, высокой водосвязывающей и водоудерживающей способностью.

Внешние различия в консистенции теста проявляются лишь при использовании 10–15% скорлупы и околоплодной оболочки кедровых орехов: тесто становится более вязким.

При введении в тесто скорлупы и околоплодной оболочки кедровых орехов в дозировке 2,5% и более отмечается снижение интенсивности брожения и газообразования. В этой связи рекомендуется вносить измельченные околоплодную оболочку и скорлупу кедровых орехов в муку, предназначенную для приготовления опары, с повышением температуры дрожжевой суспензии на 2–5 °С в целях активизации брожения и созревания опары и теста.

В качестве отличительной особенности приготовления теста с использованием скорлупы и околоплодной оболочки необходимо отметить то, что, в отличие от теста с пшеничными отрубями, у такого теста медленнее нарастает титруемая кислотность, т.е. оно не так быстро перекисает, поскольку вводимые добавки содержат значительно меньше легко сбраживаемых углеводов. В сочетании с белками муки пищевые волокна скорлупы и околоплодной оболочки кедровых орехов способствуют связыванию избыточной влаги теста, определяя повышение его вязкости и упругости, а впоследствии — и формирование развитого равномерно-пористого белково-углеводного каркаса выпечки.

В целом, общие закономерности изменения структурно-механических свойств теста с увеличением дозировки скорлупы и околоплодной оболочки имеют одно направление. Однако изменения при увеличении дозировки скорлупы более выражены и имеют тенденцию к незначительному ухудшению показателей при высоких дозировках этого сырья.

Введение скорлупы и околоплодной оболочки в дозировке 2,5–10% способствует улучшению не только физических свойств теста, что, в целом, считается характерной технологической особенностью применения богатого пищевыми волокнами сырья, но и улучшению органолептических показателей качества выпечки: в частности, у хлеба отсутствует такая характерная черта отрубного хлеба, как липкость мякиша, хлеб хорошо пропечен и обладает эластичным мякишем, отсутствуют характерные для отрубного и цельнозернового хлеба кислый вкус и запах.

В интервале дозировки 2,5–5,0% скорлупы и 2,5–10% околоплодной оболочки их введение придает хлебу необходимую структуру пористости, что, в целом, считается характерной технологической особенностью применения богатого пищевыми волокнами сырья. С повышением дозировки до 10% и более кислотообразующая способность теста резко снижается, а у готовых изделий отмечаются ухудшение пористости и удельного объема. Выявленная закономерность характерна для изделий с повышенным содержанием пищевых волокон и связана со снижением удельной доли клейковины в рецептурной смеси, определяющей технологические свойства теста. Ухудшение пропеченности мякиша, как и снижение удельного объема хлеба, согласуется с литературными данными о взаимодействии пищевых волокон скорлу-

пы и околоплодной оболочки с белками муки с образованием сложных комплексов, практически не подвергающихся ферментативному гидролизу [Куликова, 2012].

Промышленная апробация технологии хлеба с пищевыми волокнами скорлупы и околоплодной оболочки на предприятии ООО «Орлан» (Бийск) подтверждает возможность серийного производства без внесения изменений в аппаратурно-технологическую схему действующих хлебопекарных предприятий. Таким образом, реализация технологической возможности использования скорлупы и околоплодной оболочки кедровых орехов в качестве источников пищевых волокон позволяет предприятиям получить дополнительную экономическую выгоду, одновременно способствуя снижению дефицита этих физиологически функциональных ингредиентов в ежедневном рационе питания региональных потребителей.

Библиографический список

Бахтин Г.Ю., Егорова Е.Ю., Елесина В.В. Пищевые волокна для хлебобулочных и мучных кондитерских изделий // СИБ Кондитерское и хлебопекарное производство. 2013. №11–12. С. 36–40.

Голубев В.Н., Чичева-Филатова Л.В., Шленская Т.В. Пищевые и биологически активные добавки : учебник. М., 2003. 208 с.

ГОСТ Р 51404-99. Мука пшеничная. Физические характеристики теста. Определение водопоглощения и реологических свойств с применением фаринографа.

Куликова О.А., Тарасова В.В., Байгарин Е.К., Бессонов В.В. О взаимодействии пищевых волокон с белками хлеба // Хранение и переработка сельхозсырья. 2012. №4. С. 34–36.

Радченко В.Г., Сафроненкова И.Г., Селиверстов П.В. Пищевые волокна в клинической практике (обзор) // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2010. №1. С. 20–27.

Рик Т., Зиг Ю. Обогащение хлеба концентратом изолированных пшеничных и овсяных волокон // Кондитерское и хлебопекарное производство. 2011. №9. С. 30–31.

Сборник рецептур на хлеб и хлебобулочные изделия. СПб., 2004. 192 с.

Тарасова В.В. Использование пищевых волокон при производстве пшеничного хлеба // Кондитерское и хлебопекарное производство. 2009. №1. С. 4–7.

Hu G.H., Huang S., Cao S., Ma Z. Effect of enrichment with hemicellulose from rise bran on chemical and functional properties of bread // Food Chemistry. 2009. V. 115, Iss. 3. P. 839–842.

УДК 663.18

В.П. Вистовская, В.М. Гордаченко

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СУБСТРАТА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИСУТСТВИИ АМИНОПЕПТИДАЗЫ

Исследовались общее число колониеобразующих единиц молочного субстрата при культивировании Lactobacillus helveticus и Streptococcus salivarius subsp. thermophilus в присутствии аминопептидазы. Установлено, что присутствие аминопептидазы в питательной среде способствует увеличению общего микробного числа симбиотической закваски и лишь незначительно сокращает время лаг-, лог-фазы кривой роста и отмирания микроорганизмов симбиотической закваски.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, аминопептидаза, динамика микробиологических показателей.

V.P. Vistovskaya, V.M. Gordachenko
Altai State University (Barnaul, Russia)

CHANGE MICROBIOLOGICAL INDICATORS SUBSTRATE IN CULTURING STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA IN THE PRESENCE OF AMINOPEPTIDASE

We studied the total number of colony forming units of a dairy substrate by culturing Lactobacillus helveticus and Streptococcus salivarius subsp. thermophilus in the presence of an aminopeptidase. It has been established that the presence of aminopeptidase in the medium increases the total count of symbiotic yeast, and only slightly reduces the time lag, the log phase of the growth curve and the withering away of the symbiotic microorganisms ferment.

Key words: lactic acid bacteria, aminopeptidase, the dynamics of microbiological indicators.

Молочнокислые бактерии широко используют при производстве ферментированных молочных продуктов, к которым относятся и сыры. На различных этапах производства сыров происходит протеолиз, липолиз, а также ферментация лактозы. В ходе этих биохимических процессов формируются вкус, аромат и консистенция сыров; проявление органолептических характеристик сыров происходит на этапе их созревания. Процесс созревания сыра является длительным и дорогостоящим, ведь время созревания сильно варьируется для различных сыров и может составлять от трех недель (например, моцарелла) и до более двух лет (например, пармезан, выдержанный чеддер), поэтому любой процесс, приводящий к ускорению созревания сыра, интересен с экономической точки зрения [www.eapatis.com/013237.pdf, с. 1–2].

Проблема повышения качества и ускорения созревания сыров решается путем добавления в молоко факторов роста заквасочной микрофлоры, представляющих собой продукты ферментативного гидролиза белков молока, а также аттенуированные клетки и метаболиты молочнокислых бактерий [Патент РФ 2092066, 1997, с. 1; Mikelsone, 2011, p. 148]. Необходимо отметить, что использование аттенуированных клеток микроорганизмов и протеолитических ферментов (экзопептидаз) способствует формированию достаточного количества факторов роста, а именно аминокислот и низкомолекулярных пептидов, необходимых для развития микрофлоры закваски сыра. Молоко является средой, лимитирующей развитие молочнокислых бактерий из-за отсутствия или недостаточного содержания ряда факторов роста, в свою очередь, образование свободных аминокислот представляет собой важный шаг в ускорении созревания сыров. Хотя свободные аминокислоты способствуют образованию общего аромата сыра, их вклад относительно небольшой. Аминокислоты являются предшественниками, которые в дальнейшем конвертируются микроорганизмами, присутствующими в сыре, до соединений, придающих аромат. Таким образом, доступность аминокислот важна для образования аромата сыра и, следовательно, для его созревания.

Образование аромата, свойственного для сыра, требует тонкого баланса протеолитических активностей вовлеченных протеаз. Любое нарушение баланса легко приводит к образованию нежелательных ароматов, а также горечи. Из протеолитических ферментов экзопротеазы являются более предпочтительными, чем эндопротеазы, так как они имеют более слабую тенденцию к образованию горечи. Уже разработано несколько продуктов, которые содержат только активные экзопептидазы, а именно аминопептидазы: DBS50 и DBP20 (выпускаемые Rhodia, France), Corolase LAP (Rohm, Germany), Flavourzyme MG/A (Novozymes, Denmark), Accelerzyme AP (DSM, The

Netherlands) и Peptidase R (Amano, Japan) для высвобождения аминокислот, которые являются важными предшественниками аромата сыра, таких как лейцин, фенилаланин и валин, а также для ускорения созревания сыра [Гордаченко и др., 2014, с. 15; www.eapatis. com/013237.pdf, с. 1–2].

Важную роль в созревании сыров играет протеолитическая система молочнокислых бактерий. Комбинированное действие протеиназ и пептидаз обеспечивает прокариотическую клетку короткоцепочечными пептидами и аминокислотами, которые проникают через цитоплазматическую мембрану за счет наличия специфических транспортных белков. Поглощенные пептиды подвергаются дальнейшему расщеплению внутриклеточными пептидазами [Головач, 2012, с. 118–119].

Цель работы — изучение влияния присутствия экзопептидазы (аминопептидазы) в молочном субстрате на рост молочнокислых бактерий в периодической культуре.

В данном исследовании была изучена динамика популяции молочнокислых бактерий периодическим культивированием в течение 24 часов. Объектами исследования были выбраны штаммы молочнокислых бактерий Lactobacillus helveticus СКМ 35-3 и Streptococcus salivarius subsp. thermophilus Д/И из коллекции лаборатории микробиологии ГНУ СибНИИ сыроделия, в качестве экопептидазы была использована аминопептидаза (Accelerzyme NP 50000, полученную из штамма Bacillus amyloliguetacicus, производство Нидерланды, DSM). Выбор видов молочнокислых бактерий основан на использовании данных микроорганизмов в бактериальных препаратах для сыров. В качестве субстрата использовали стерильное восстановленное сухое цельное молоко (далее — СЦМ).

Культивирование проводили при температуре 37 °С в термос. Инокулятом служила суточная культура, выращенная в стерильном восстановленном СЦМ.

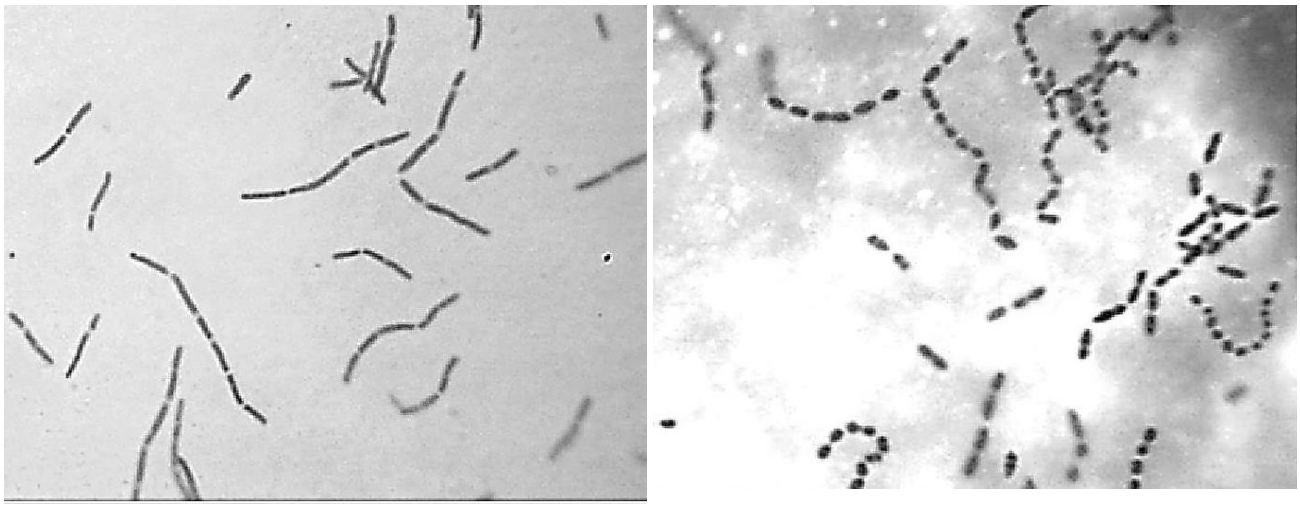
В ходе эксперимента изучали колониеобразующие единицы (далее КОЕ) в следующих образцах:

- стерильное восстановленное СЦМ + 1% суточной культуры штамма Lactobacillus helveticus СКМ 35-3;
- стерильное восстановленное СЦМ + 1% суточной культуры штамма Streptococcus salivarius subsp. thermophilus Д/И;
- стерильное восстановленное СЦМ + 1% суточной культуры штаммов (0,5% Lactobacillus helveticus СКМ 35-3 и 0,5% Streptococcus salivarius subsp. thermophilus Д/И);
- стерильное восстановленное СЦМ + 1% суточной культуры штамма Lactobacillus helveticus СКМ 35-3 + 0,002% от объема аминопептидаза;
- стерильное восстановленное СЦМ + 1% суточной культуры штаммов (0,5% Lactobacillus helveticus СКМ 35-3 и 0,5% Streptococcus salivarius subsp. thermophilus Д/И) + 0,002% от объема аминопептидаза.

В ходе всего культивирования определяли КОЕ исследуемых образцов при посеве на плотный питательный агар (КМАФАнМ) по ГОСТ 10444.15-94; КОЕ (или общее микробное число, ОМЧ) оценивали по численности мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, выросших в виде видимых колоний на плотном питательном агаре при температуре 30 ± 1 °С в течение 72 часов. Для проверки чистоты культивируемых образцов микроорганизмов мы использовали метод микроскопического исследования фиксированных окрашенных препаратов микроорганизмов (рис. 1, *а* и *б*).

Общее микробное число стерильного восстановленного СЦМ (контроль) соответствует стерильному и не меняется в течение всего эксперимента.

Основные результаты эксперимента представлены в таблице.



а) Б)

Рис. 1. Микрофотографии клеток суточной культуры Lactobacillus helveticus (а) и культуры Streptococcus thermophilus (б), увеличение 1000, масляная иммерсия

Результаты периодического культивирования исследуемых образцов

Время инкубации, ч	КОЕ/мл				
	L. helveticus	S. thermophilus	L. helveticus + S. thermophilus	L. helveticus + аминопептидаза	L. helveticus + S. thermophilus + аминопептидаза
1	$3{,}60\times10^5$	$0{,}41\times10^5$	$4{,}40\times10^5$	$4{,}80\times10^5$	$2{,}25\times10^5$
3	$6{,}00\times10^5$	$3{,}47\times10^5$	$4{,}82\times10^5$	$7{,}43\times10^5$	$5{,}17\times10^5$
5	$1{,}77\times10^6$	$7{,}00\times10^5$	$2{,}58\times10^6$	$1{,}84\times10^6$	$1{,}93\times10^6$
7	$4{,}50\times10^6$	$6{,}60\times10^6$	$6{,}30\times10^6$	$5{,}51\times10^6$	$8{,}75\times10^6$
8	$9{,}40\times10^6$	$2{,}30\times10^6$	$7{,}56\times10^6$	$1{,}49\times10^7$	$9{,}10\times10^6$
24	$2{,}70\times10^7$	$1{,}20\times10^6$	$4{,}27\times10^6$	$3{,}03\times10^7$	$4{,}60\times10^6$

Кривые роста первых трех образцов представлены на рисунке 2. Кривая роста Str. Thermophilus характеризуется следующими параметрами: лаг-фаза — 5 часов, продолжительность логарифмической фазы роста — 2 часа, а время перехода культуры в стационарное состояние — 7 часов, максимальный достигаемый при данных условиях культивирования титр клеток составляет $6{,}60 \times 10^6$ и приходится на 7 часов. Снижение концентрации клеток начинает наблюдаться в питательной среде после 7 часов культивирования. Кривая роста L. Helveticus отражает только лаг-фазу и фазу экспоненциального роста, причем максимальный титр клеток не достигнут даже после 24 часов культивирования. Динамика роста и отмирания симбиотической закваски, содержащей Str. Thermophilus и L. helveticus, имеет сходный характер с кривой роста и отмирания Str. Thermophilus, но время лаг- и лог-фазы более продолжительное и занимает около 8 часов, а максимальный титр клеток составляет $7{,}56 \times 10^6$ и приходится на 8 часов культивирования. Сравнивая динамику накопления бактериальной массы в питательной среде, необходимо отметить сдерживающее действие Str. Thermophilus на рост L. helveticus.

С термофильным стрептококком швейцарская палочка развивается более гармонично, нет такого активного роста штамма, как при отдельном его культивировании, что положительно влияет на дальнейшее применение штамма при производстве молочных продуктов.

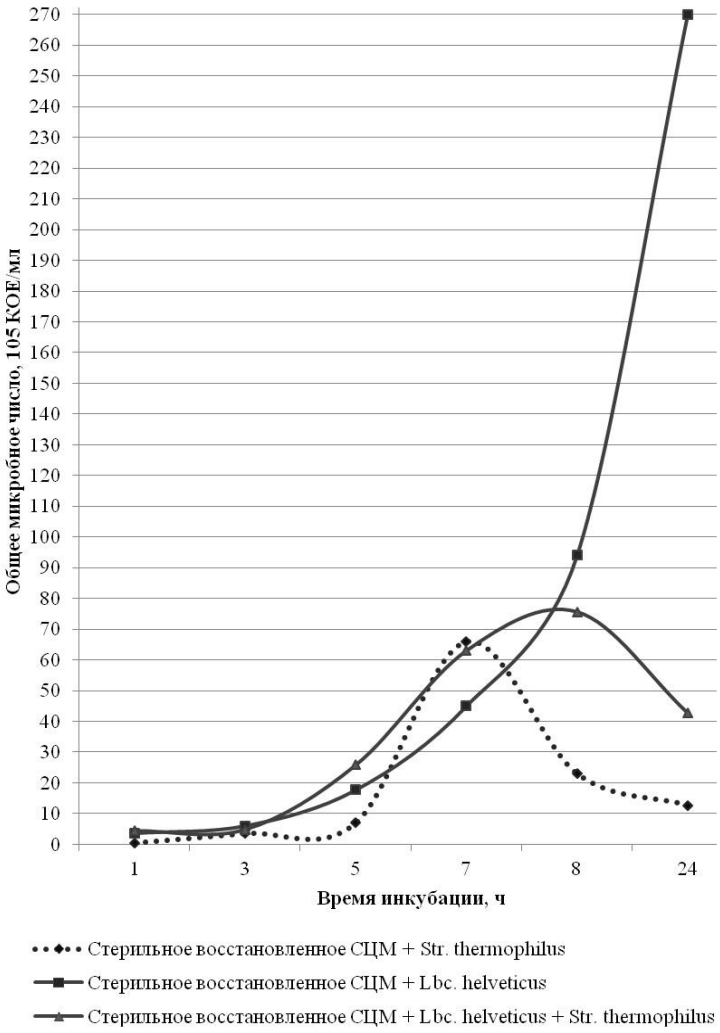


Рис. 2. Кривые роста культуры молочнокислых бактерий Str. thermophilus, L. helveticus

При культивировании L. helveticus в присутствии аминопептидазы отмечается увеличение общего микробного числа уже после 7 часов культивирования (рис. 3), хотя к 24 часам инкубирования число КОЕ становится практически равным.

Увеличение колониеобразующих единиц в среде связано с действием аминопептидазы, так как она выделяет свободные аминокислоты, которые ускоряют рост L. helveticus.

Исследования изменения общего микробного числа питательной среды в присутствии аминопептидазы и обоих штаммов молочнокислых бактерий показали, что добавление аминопептидазы способствует увеличению числа колоний исследуемых штаммов (рис. 4). Это связано с тем, что фермент, действуя на молочный субстрат, образует многочисленные азотистые соединения, которые ускоряют рост штаммов, при этом L. helveticus и S. thermophilus быстрее проходят фазы роста. После 7 часов инкубации при совместном действии аминопептидазы и симбиотической закваски общее микробное число соответствует $8{,}75 \times 10^6$ КОЕ/мл, что на 28% больше в сравнении с питательной средой без аминопептидазы.

Согласно экспериментальным данным, присутствие аминопептидазы в питательной среде способствует увеличению общего микробного числа симбиотической закваски и лишь незначительно сокращает время лаг-, лог-фазы кривой роста и отмирания микроорганизмов симбиотической закваски.

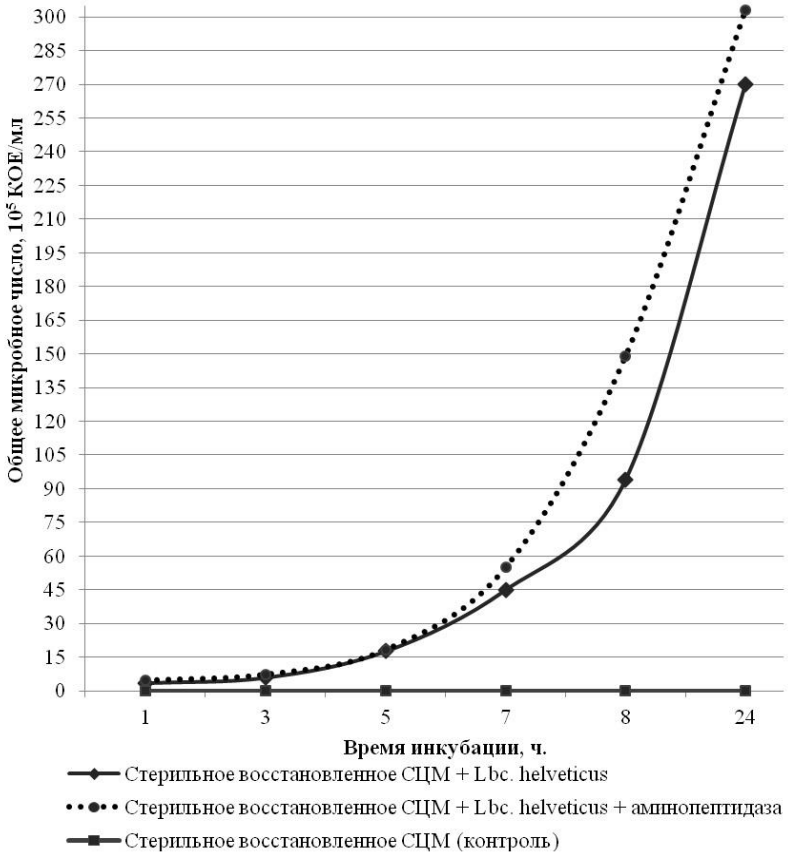


Рис. 3. Кривая роста культуры L. helveticus

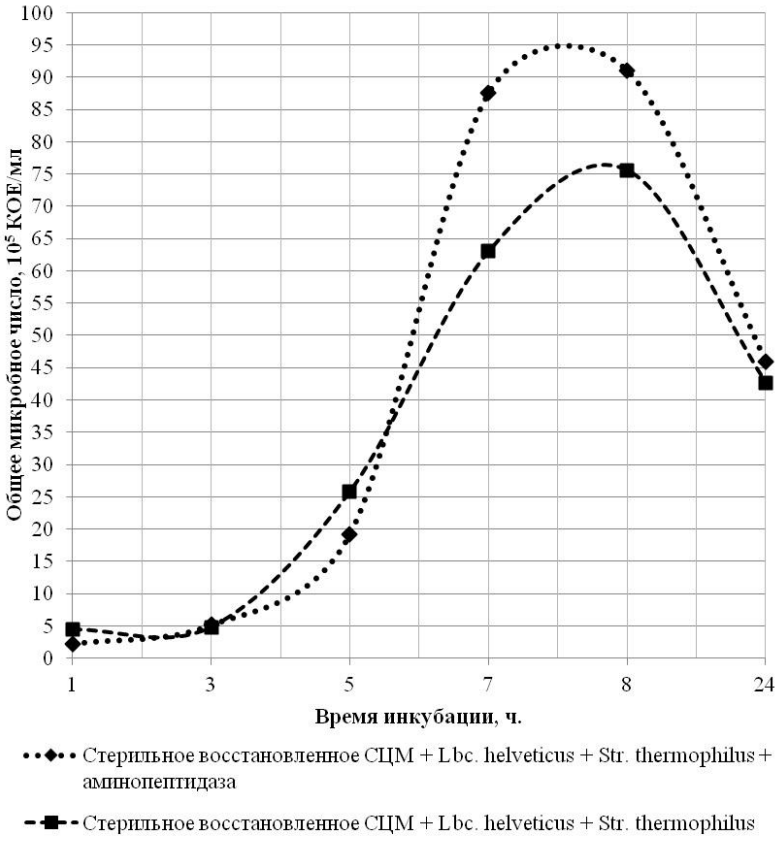


Рис. 4. Влияние аминопептидазы на рост симбиотической культуры

Библиографический список

Головач Т.Н., Курченко В.П. Гидролиз белков молока ферментными препаратами и протеолитическими системами молочнокислых бактерий // Труды Белорусск. гос. ун-та. Сер. : Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2012. Т. 7, ч. 1. С. 107–127.

Гордаченко В.М., Вистовская В.П., Беккер О.А. Ферментативные гидролизаты белков молока // Известия Алт. гос. ун-та. 2014. №3-1 (83). С.15–19.

Изобретение относится к созреванию сыра [Электронный ресурс]. URL: http//www.eapatis.com/013237.pdf.

Патент РФ 2092066. Свириденко Ю.Я., Перфильев Г.Д., Козлова В.М., Свириденко Г.М. Способ получения препарата для ускорения созревания и улучшения качества мелких сычужных сыров (RU 2092066):A23C19/032 — характеризующееся применением определенных микроорганизмов и(или) ферментов микробиального происхождения [Электронный ресурс]. URL: http://www.findpatent.ru/patent/209/2092066.html.

Mikelsone I., Ciprovica A. The study of attenuated starter in Holandes cheese ripening // Foodbalt-2011 : 6th Baltic conference on food science and technology «Innovations for food science and production», Jelgava, May 5–6, 2011: conference proceedings / Latvia University of Agriculture. Faculty of Food Technology. Jelgava, 2011. P.148.-152.

УДК 637.3:001.895

Н.Б. Гаврилова, Е.А. Молибога

Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина (Омск, Россия)

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ТЕХНОЛОГИИ ПЛАВЛЕНЫХ СЫРОВ И СЫРНЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Обсуждается проблема производства плавленых сыров и сырных продуктов в рамках реализации программы повышения объемов производства российских продуктов питания, представлены результаты разработки комплексной технологии плавленых сыров и сырных продуктов для функционального питания. Основной принцип данной технологии — это разработка технологических параметров и приемов обработки основного сырья молока как самого натурального и биологически полноценного функционального продукта с целью сохранения его нативных свойств. Первый блок данной технологии включает в себя интенсификацию процесса производства полутвердых сыров и сырных масс для плавления путем активизации заквасочной микрофлоры на специальной среде. Во втором блоке представлена технология плавленого сыра «Студенческий» и характеристика его биологической ценности. Данный плавленый сырный продукт является биологически полноценным и содержит незаменимые аминокислоты, жирные кислоты, витамины и минеральные вещества, его биологическая ценность определяется сбалансированностью и полноценностью аминокислотного состава. На элементы инновационной комплексной технологии разработана и утверждена нормативная документация, новизна технологических и рецептурных решений отражена в патентах РФ. Продукты, выработанные в рамках реализации комплексной технологии, отличаются высоким качеством, пищевой ценностью, безопасностью, содержанием специальных пищевых веществ: незаменимых аминокислот, жирных кислот, витаминов, биофлавоноидов и пищевых волокон, способствующих усвоению организмом потребителей различных возрастных групп. Комплексная технология производства плавленых сыров и сырных продуктов рекомендуется для молочных предприятий с полным циклом переработки животного и растительного сырья. Все компоненты рецептур подбираются в зависимости от назначения продукта: школьное питание, геродиетическое питание, спортивное питание, массовое питание и др.

Ключевые слова: инновационная технология, плавленые сыры и сырные продукты, интенсивная технология, нативные свойства, молоко-сырье, функциональное питание.

N.B. Gavrilova, E.A. Moliboga
Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin (Omsk, Russia)

INNOVATIVE TECHNOLOGY PROCESSED CHEESE AND CHEESE PRODUCTS FOR A FUNCTIONAL FOOD

The article discusses the problem of production of processed cheese and cheese products as part of the program to improve production volumes Russian foodstuff-tion, the results of the development of complex technology of processed cheese and cheese-tion of products for functional food. The basic principle of this technology — is the development of technological parameters and methods of processing the main raw milk, both the natural and biologically fully functional product, in order to preserve its native properties. The first block of this technology include the intensification of the process of production semi-hard cheese and cheese curds to melt, by activating the starter microflora in a special environment. In the second section presents technology processed cheese "Student" and the characterization of its biological value. This processed cheese product is a biologically complete and contains essential amino acids, fatty acids, vitamins and minerals, it is determined by the balance of the biological value and usefulness of its amino acid composition. On the elements of the innovation of complex technologies developed and approved by regulatory documentation, technological innovation and prescription decisions reflected in the patents of the Russian Federation. Products developed in the framework of the integrated technology, are of high quality, nutritional value, safety, maintenance of special nutrients: essential amino acids, fatty acids, vitamins, bioflavonoids and fiber that help to assimilate the body of consumers of different age groups. Complex technology of processed cheese and cheese products, dairy production is recommended for enterprises with a full cycle of processing animal and vegetable raw materials. All components of the recipes are selected depending on the destination of the product: school meals, gerodieticheskogo nutrition, sports nutrition, diet and weight, etc.

Key words: innovative technology, processed cheese and cheese products, intensive technology, the native properties, milk, raw materials, functional food.

Проблема увеличения объемов производства высококачественных и биологически полноценных продуктов питания, в числе которых сыры и сырные продукты, в настоящее время особенно актуальна, в рамках программы импортозамещения продуктами российских производителей.

За 2013 г. по официальным данным Федеральной службы государственной статистики РФ среди производимой и реализуемой в России сырной продукции по прежнему популярными и востребованными потребителями являются плавленые сыры. Также вырос спрос на сырные продукты, прирост производства которых в 2013 г. составил 67%, т.е. 87 тыс. т против 52 тыс. т в 2012 г. [Горощенко, 2014, с. 4–6].

Для дальнейшего развития производства плавленых сыров и сырных продуктов необходимы ресурсосберегающие технологии, которые позволяют сохранить нативные свойства животного и растительного сырья в процессе его переработки и обеспечить в готовых продуктах высокое качество, биологическую ценность и безопасность.

На кафедре продуктов питания и пищевой биотехнологии ОмГАУ им. П.А. Столыпина в рамках реализации научной темы «Разработка теоретических основ, создание новых технологий и техники для производства безопасных продуктов питания с функциональными свойствами» (номер гос. регистрации 01.200609463) и гранта Президента РФ №14.120.14. 5651-МК от 3 февраля 2014 г. разработана комплексная технология плавленых сыров и сырных продуктов для специального питания, существенным элементом которой является интенсивная технология сыра

и сырных масс для плавления. Биологическая ценность представленного инновационного продукта была исследована на современном высокотехнологическом оборудовании: системы капиллярного электрофореза «Капель-105» и автоматического анализатора азота Rapid N cube, основываясь на нормативных документах, регламентирующих процедуру исследования.

Основной принцип данной технологии — это разработка технологических параметров и приемов обработки основного сырья молока как самого натурального и биологически полноценного функционального продукта с целью сохранения его нативных свойств.

Базовой основой традиционных рецептур плавленых сыров являются концентрированные белковые и белково-жировые продукты: сыры жирные и нежирные; сырная масса для плавления; творог жирный и нежирный. Остальные компоненты рецептур — это немолочные продукты, специальные и функциональные ингредиенты, а также вкусовые добавки. Разнообразие сырьевых ингредиентов создает определенные трудности для производства продуктов функционального питания.

Современные молочные предприятия представляют собой комплексы или комплексные модули, имеющие замкнутый цикл: производство сырья (на собственных фермах) → переработка сырья на готовые виды продуктов и полуфабрикатов (производственный модуль) → реализация готовой продукции (через собственные торговые точки или на основании целевых договоров с торгующими организациями). Такой подход позволяет гарантировать высокое качество производства и безопасность производимых продуктов питания, также обеспечивает устойчивые экономические показатели молочного предприятия.

Работающий в таких условиях производитель может регулировать ассортимент выпускаемой продукции и исключить или сократить до минимума влияние сезонности производства молока-сырья на объемы производства молочных продуктов, особенно сыра и сырных продуктов, технология которых требует больших объемов сырья. В рамках вышеизложенного является актуальной разработка интенсивной технологии сыра, используемого для собственного производства сырных плавленых продуктов (первый блок).

Одним из ключевых факторов формирующих видовые особенности сыров и сырных продуктов являются закваски. Это специальные виды бактерий или группа видов одного и более родов, которые, развиваясь в молоке и сгустке, способствуют получению зрелого сыра [Опанасенко, 2009].

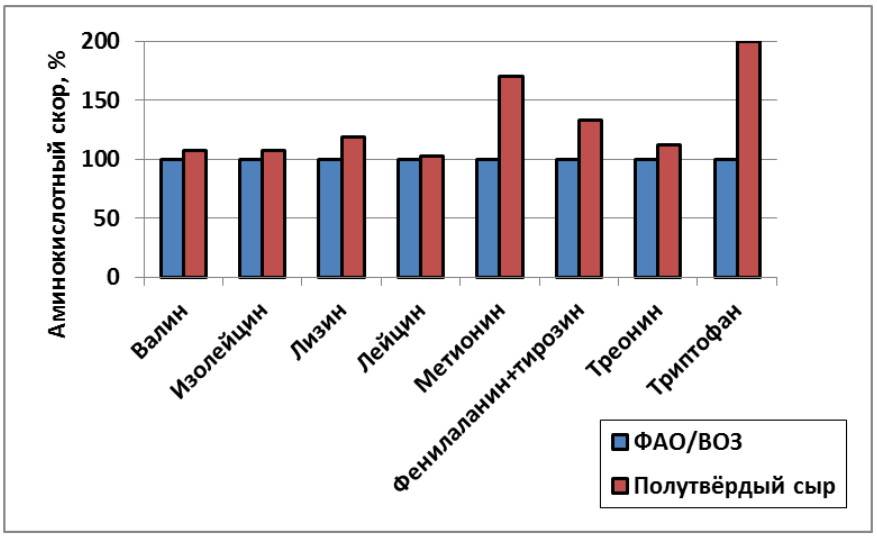
Заквасочные культуры используют прежде всего для преобразования лактозы в молочную кислоту, которая понижает pH системы и создает условия, необходимые для множества реакций, имеющих место в сыроделии. Во-вторых, что не менее важно, ферменты живых или погибших заквасочных бактерий разрушают некоторые компоненты молока и выделяют предшественников веществ, обусловливающих вкус и аромат продукта.

Из заквасочных культур особенно выделяются микроорганизмы Propionibacterium freidenreichii subsp. shermanii, которые способны к газообразованию, участвуют в образовании вкуса сыров и признаны функциональным ингредиентам. Оптимальная температура роста для них — 22–30 °С, растут в интервале между 15 и 40 °С. Отличительной особенностью пропионовокислых бактерий (ПКБ) является синтез витамина В12 [Мюнх, 1985; Гудков, 2003].

В экспериментальной работе использован глубокозамороженный концентрат смеси штаммов пропионовокислых бактерий P. freudenreichii subsp. shermanii (клеточная концентрация ≥ $2 \cdot 10^{10}$ клеток/мл) и молочнокислых бактерий L. delbrueckii ssp. lactis (клеточная концентрация ≥ $1 \cdot 10^{9}$ клеток/мл).

Интенсивность микробиологических и биохимических процессов, протекающих при выработке сыра в емкости (ванна или сыроизготовитель), при посолке и созревании в значительной мере определяется активностью микрофлоры закваски. В практике отечественного сыроделия при приготовлении производственных заквасок в качестве питательной среды используют обезжиренное молоко. Однако непостоянный химический состав молока, связанный со здоровьем животных, рационами и режимами кормления, его сезонные колебания, возможное наличие различных факторов, ингибирующих или подавляющих развитие молочнокислых микроорганизмов, часто превращают молоко в среду, непригодную или малопригодную для получения качественной закваски.

Нами разработана питательная среда для активизации выбранных культур, что позволило интенсифицировать процесс производства и выработать полутвердый сыр с высокими органолептическими показателями: приятным пряным вкусом, пластичной консистенцией и способностью к быстрому изменению агрегатного состояния при нагревании (плавлении). Биологическая ценность полутвердого сыра для плавления характеризуется высоким содержанием незаменимых аминокислот и показателями аминокислотного скора (рис.).



Аминокислотный скор полутвердого сыра в сравнении со шкалой ФАО/ВОЗ

Второй блок инновационной комплексной технологии состоит в разработке рецептуры плавленого сыра или сырного продукта, ингредиентный состав которых ориентирован на достижение в продукте сбалансированности по основным пищевым веществами и включении в состав смеси для плавления функционально необходимых ингредиентов (эмульгирующие соли в сочетании со стабилизаторами), немолочных компонентов (биодобавки, пептиды, витаминно-минеральные комплексы), а также вкусовые ингредиенты [Технический регламент, 2013].

Все компоненты рецептур подбираются в зависимости от назначения продукта:

– школьное питание;
– геродиетическое питание;
– спортивное питание;
– массовое питание и др.

В частности, на основе полутвердого сыра разработана технология плавленого сырного продукта «Студенческий». Плавленый сырный продукт является биологически полноценным и содержит незаменимые аминокислоты, жирные кислоты, вита-

мины и минеральные вещества. Биологическая ценность продукта определяется сбалансированностью и полноценностью его аминокислотного состава. Результаты определения аминокислотного состава продукта приведены в таблице 1.

Таблица 1

Аминокислотный состав плавленого сырного продукта, г/100 г продукта

Показатели	Плавленый сырный продукт
Незаменимые, в том числе	9,910
валин	1,535
лейцин	2,286
изолейцин	1,065
лизин	1,451
метионин	0,355
треонин	1,010
триптофан	0,410
фенилаланин	1,798
Заменимые, в том числе	7,355
аланин	0,492
аргинин	0,399
аспарагиновая кислота	0,904
гистидин	0,445
глицин	0,439
глутаминовая кислота	1,752
пролин	1,011
серин	1,091
тирозин	0,412
цистин	0,410
Сумма	17,265

Следует отметить, что более объективным показателем, характеризующим биологическую ценность плавленого сырного продукта, является аминокислотный скор, результаты расчета которого приведены в таблице 2.

Таблица 2

Аминокислотный скор белков плавленого сырного продукта в сравнении со шкалой ФАО/ВОЗ

Аминокислоты	Шкала ФАО/ВОЗ		Плавленый сырный продукт	
	А	С	А	С
Изолейцин	40,0	100	61,92	155
Лейцин	70,0	100	132,91	190
Лизин	55,0	100	84,36	153
Метионин+цистин	35,0	100	44,4	127
Фенилаланин+тирозин	60,0	100	128,49	214
Треонин	40,0	100	58,72	147
Триптофан	10,0	100	23,84	238
Валин	50,0	100	89,24	178
Итого	360,0	-	623,96	173

Примечание: А — содержание незаменимых аминокислот, мг/г белка; С — аминокислотный скор, % относительно справочной шкалы ФАО/ВОЗ.

Биологическая и пищевая ценность плавленых сырных продуктов также характеризуется наличием в них основных жиро- и водорастворимых витаминов (табл. 3) и минеральных веществ (табл. 4).

Таблица 3

Качественный и количественный состав витаминов, мг/100 г

Показатели	Плавленый сырный продукт
Ретинол (А)	0,085
Токоферолы (Е)	2,230
Кальциферолы (Д)	4,400
Аскорбиновая кислота (С)	58,000
Тиамин (B_1)	1,570
Рибофлавин (B_2)	1,920
Цианокобаламин (B_{12})	1,160

Таблица 4

Качественный и количественный состав минеральных веществ, мг/100 г

Показатели	Плавленый сырный продукт
Na	1020,0
K	210,0
Ca	700,0
Mg	16,0
P	10,0
Fe	0,3

Пищевая и энергетическая ценность нового продукта представлена в таблице 5. На элементы инновационной комплексной технологии разработана и утверждена нормативная документация, новизна технологических и рецептурных решений отражена в патентах РФ, которые представлены в таблице 6.

Таблица 5

Пищевая и энергетическая плавленого сырного продукта

Продукт	Массовая доля, %			Энергетическая ценность	
	жира	белка	углеводов	ккал	кДж
Плавленый сырный продукт	21,5 ± 0,5	17,0 ± 0,5	0,20 ± 0,05	258,60	1075,78

Таблица 6

Комплексная технология производства плавленых сыров и сырных продуктов для предприятий полного цикла

№ п/п	Комплексная технология	Нормативная документация	Патенты РФ	Авторы
1	*2*	*3*	*4*	*5*
I	Сычужный сыр для плавления с пропионовокислыми бактериями. Плавленый сырный продукт «Студенческий»	СТО 403125198-001-2008	Патент РФ на изобретение №2380914 «Композиция для получения плавленого и сырного продукта»	Опанасенко М.В. Гаврилова Н.Б. Пасько О.В. Кочеткова Н.В.

Окончание таблицы 6

1	*2*	*3*	*4*	*5*
II	Белково-углеводная сырная масса. Плавленый сырный продукт «Вкусняшка»	СТО 71063300-001-2012	Патент РФ на изобретение №2466545 «Композиция для производства сырного продукта «Вкусняшка»	Гаврилова Н.Б. Молибога Е.А. Шмат Е.В. Кащеева Н.Л.
III	Нежирный сыр для плавления. Сыр плавленый «Отличник» для школьного питания	СТО 71063 300-001-2012	Патент РФ на изобретение №2450527 «Композиция плавленого сырного продукта «Отличник»	Сохряков С.О. Гаврилова Н.Б. Молибога Е.А. Гаирбекова В.Л.
IV	Сырный сычужный продукт. Сырный продукт плавленый (для диабетического питания)	СТО 97887 659-007-2011	Патент РФ на изобретение №2431409 «Способ производства сырного продукта»	Рябкова Д.С. Гаврилова Н.Б. Рыбченко Т.В. Молибога Е.А.
V	Сырная масса быстросозревающая для плавления. Пластифицированный сырный продукт	СТО 56438524-001-2010	Патент №2458516 МПК А 23С19/082. Заявл. 12.01.2011. Опубл. в Б.И. №23, 20.08.2012	Велев Р.О. Пасько О.В. Гаврилова Н.Б. Молибога Е.А.
VI	Сыр быстросозревающий для плавления. Сырный плавленый продукт для школьного питания	СТО 56438524-003-2010	Патент №2465775 МПК А 23С 19/055. Заявл. 12.04.2011. Опубл. в Б.И. №31, 10.11.2012	Гаврилова Н.Б. Сорокина Е.В. Молибога Е.А.

Продукты, выработанные в рамках реализации комплексной технологии, отличаются высоким качеством, пищевой ценностью, безопасностью, содержанием специальных пищевых веществ: незаменимых аминокислот, жирных кислот, витаминов, биофлавоноидов и пищевых волокон, способствующих усвоению организмом потребителей различных возрастных групп. Комплексная технология плавленых сыров и сырных продуктов производства рекомендуется для молочных предприятий с полным циклом переработки животного и растительного сырья.

Библиографический список

Горощенко Л.Г. Российское производство сыров и творога // Сыроделие и маслоделие. 2014. №4. С. 4–6.

Опанасенко М.В. Разработка технологии плавленого сырного продукта : дис. … канд. техн. наук. Семипалатинск, 2009. 233 с.

Мюнх Г.-Д., Заупе Х., Шрайтер М. и др. Микробиология продуктов животного происхождения. М., 1985. 592 с.

Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. М., 2003. 800 с.

Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочных продукции» (ТР ТС 033/2013). Принят 09.10.2013. №67.

Патент 2431409 Российская Федерация, МПК А23С 19/055. Способ производства сырного продукта / Гаврилова Н.Б., Рябкова Д.С., Рыбченко Т.В., Молибога Е.А.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина. №2010105774; заявл. 19.11.03 ; опубл. 20.10.11.

Патент 2450527 Российская Федерация, МПК A23C 19/08. Композиция для получения сырного продукта «Отличник» / Н.Б. Гаврилова, С.О. Сохряков, Е.А. Молибога, В.Л. Гаирбекова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина. №2010132002; заявл. 26.07.10 ; опубл. 20.05.12.

Патент 2458516 Российская Федерация, МПК A 23C 19/082. Композиция плавленого сырного продукта / О.В. Пасько, Н.Б. Гаврилова, Е.А. Молибога, Р.О. Велев; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина. №2011101123; заявл. 12.01.11 ; опубл. 20.08.12.

Патент 2465775 Российская Федерация, МПК A 23C 19/055. Способ получения сырного продукта «Умник» / Н.Б. Гаврилова, Е.В. Сорокина, Е.А. Молибога; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина. №2011114310; заявл. 12.04.2011; опубл. 10.11.2012.

Milk proteins: from expression to food // Food Science and Technology, International Series / Ed.: A. Thompson, M. Boland, H. Singh. Massey University. New Zealand Elsevier Inc., 2009. 535 p.

Гаврилова Н.Б., Молибога Е.А. Комплексная технология плавленых сыров и сырных продуктов // Сыроделие и маслоделие. 2014. №45. С. 18–19.

УДК 577.114

Е.К. Гладышева, Е.А. Скиба

Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СИНТЕЗА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ПРОДУЦЕНТОМ *MEDUSOMYCES GISEVII*

Исследован процесс биосинтеза бактериальной целлюлозы (БЦ) на синтетической глюкозной среде с использованием симбиотической культуры *Medusomyces gisevii*. Изучено влияние температуры и соотношения питательной среды и воздуха на выход бактериальной целлюлозы. Установлено, что наибольший выход БЦ достигается при температуре культивирования 24–27 °С. Показано, что аэрация является лимитирующим фактором в процессе биосинтеза БЦ. Максимальный выход БЦ наблюдается при соотношении объемов питательной среды и воздуха 1 : 10.

Ключевые слова: бактериальная целлюлоза, *Medusomyces gisevii,* симбиоз, культивирование.

E.K. Gladysheva, E.A. Skiba

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

BIOTECHNOLOGICAL FUNDAMENTALS FOR SYNTHESIS OF BACTERIAL CELLULOSE BY THE *MEDUSOMYCES GISEVII* PRODUCER

The bacterial cellulose biosynthesis process on a synthetic glucose medium has been studied using the symbiotic *Medusomyces gisevii* culture. The effects of temperature and nutrient medium-to-air ratio on the bacterial cellulose yield have been investigated. The yield of bacterial cellulose was found to be the highest when the cultivation temperature was 24–27 °C. The aeration was shown to be a limiting factor during the biosynthesis of bacterial cellulose. The maximum yield of bacterial cellulose was observed when the nutrient medium-to-air ratio by volume was 1 to 10.

***Key words*:** bacterial cellulose, *Medusomyces gisevii*, symbiosis, cultivation.

Бактериальная целлюлоза (БЦ) — целлюлоза, синтезируемая бактериями на поверхности питательной среды в виде гель-пленки. БЦ обладает свойствами, отли-

чающими ее от растительной целлюлозы, а именно более высокими степенями полимеризации и кристалличности, высокой водопоглощающей способностью, более высокой механической прочностью при меньшей ширине волокна, чем у растительной целлюлозы [Belgacem, 2008, p. 370]. Также БЦ обладает биосовместимостью, эластичностью и является биоразлагаемым полимером [Pokalwa, 2010, p. 14].

Технология получения БЦ для различных областей применения развивается в странах ЕС, США и Японии с 40-х гг. XX в. В настоящее время достигнуты значительные успехи в данной области. Бактериальная целлюлоза широко используется в биотехнологической, электронной, целлюлозно-бумажной, пищевой и химической промышленностях. Особо важное применение БЦ получила в медицине [Гладышева, 2014, с. 308].

К настоящему времени установлено, что к синтезу бактериальной целлюлозы способны микроорганизмы родов *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Enterobacter*, *Sarcina*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Alcaligenes*, но наиболее представительным является род *Gluconoacetobacter* (ранее *Acetobacter*) [Koon-Yang Lee, 2014, p. 12]. В данной работе используется продуцент *Medusomyces gisevii,* представляющий собой симбиотическую культуру, состоящую из 20–26 видов дрожжей и 8–10 уксуснокислых бактерий. В настоящее время из медузомицета изолировано 8 видов уксуснокислых бактерий и 26 видов дрожжей [Юркевич, 2002, с. 1120, табл. 2]. Видовой состав культуры может изменяться в зависимости от условий культивирования, климатического пояса, времени года и других факторов.

Получение БЦ — сложный и длительный процесс, при этом для каждого продуцента необходим подбор условий, обеспечивающих высокий выход целевого продукта [Koon-Yang Lee, 2014, p. 17]. Концентрация источника углерода, уровень активной кислотности, температура, влияние соотношения объемов питательной среды и воздуха оказывают влияние на биохимическую активность симбиоза [Юркевич, 2002, с. 1119]. Кроме того, на выход БЦ влияет состав питательной среды: наличие витаминов и факторов роста, источников азотного и фосфорного питания и т.д. [Koon-Yang Lee, 2014, p. 15].

В данной работе использованы синтетические питательные среды, приготовленные растворением глюкозы в экстракте черного чая. Доза внесения инокулята составила 10%. Культивирование проводилось в статических условиях. Убыль редуцирующих сахаров контролировалась спектрофотометрически (спектрофотометр «UNICOUV-2804», США) с использованием динитросалицилового реактива, прирост пленки БЦ оценивался гравиметрически (взвешивались суховоздушные образцы весы лабораторные аналитические Explorer EX-224).

С целью определения температурного оптимума для биосинтеза БЦ проводилось культивирование в статических условиях при температурах: 21, 24, 27, 30, 33 и 36 °С. Начальная концентрация субстрата — 20 г/л.

На рисунке 1 представлена зависимость выхода БЦ от температуры культивирования, на рисунке 2 — убыль редуцирующих веществ в процессе культивирования *Medusomyces gisevii* при различных температурах.

В результате эксперимента было установлено, что температура от 24 до 27 °С наиболее благоприятна для синтеза БЦ, так как обеспечивает наибольший выход — 9%. Рост гель-пленок БЦ происходит до 16 суток, далее наблюдается стационарная фаза и деградация БЦ. При температуре 30 °С и выше отмечается значительное снижение выхода БЦ: например, при 36 °С выход составляет 1,5%. Вероятно, при температуре выше 30 °С начинают происходить конформационные изменения ферментов, входящих в целлюлозосинтезирующий энзимный комплекс. Температура ниже 24 С является недостаточной, так, при 21 °С выход БЦ снижается и со-

ставляет 6% (т.е. 67% от максимально возможного), это явление может быть объяснено правилом Вант-Гоффа.

Отметим, что температурные оптимумы для утилизации субстрата и для синтеза целевого метаболита не совпадают. В исследованном диапазоне температур скорость убыли редуцирующих веществ при культивировании *Medusomyces gisevii* тем больше, чем выше температура. Таким образом установлено, что для продуцирования БЦ культурой *Medusomyces gisevii* оптимальным является температурный диапазон 24–27 °С, отклонения от оптимума вызывают снижение целлюлозосинтетической способности.

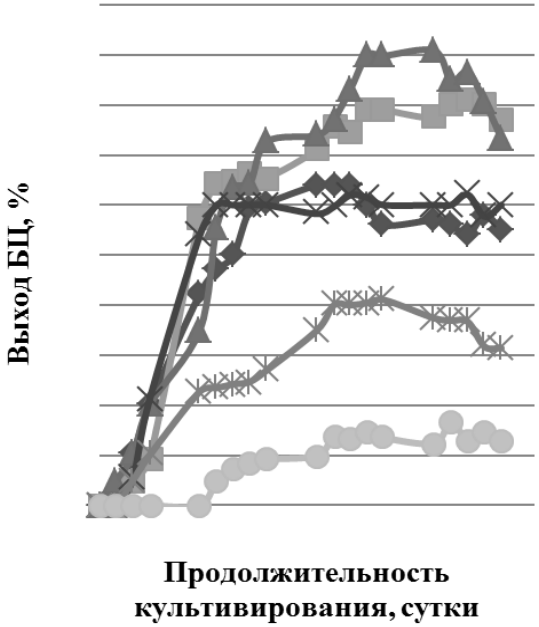


Рис. 1. Зависимость выхода БЦ от температуры культивирования *Medusomyces gisevii*

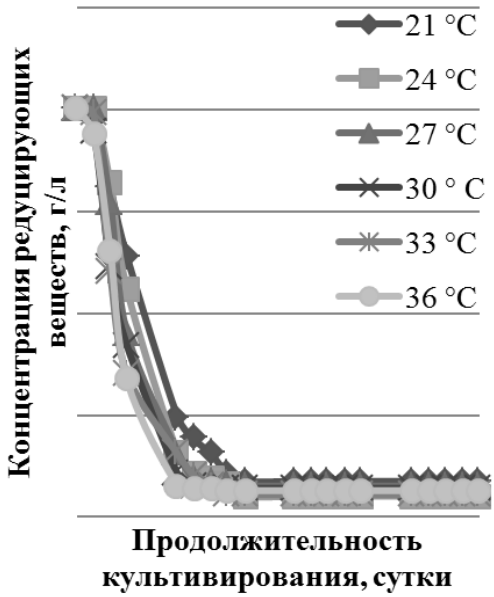


Рис. 2. Убыль редуцирующих веществ в процессе культивирования *Medusomyces gisevii* при различных температурах

Изучено влияние соотношения питательной среды и воздуха на выход БЦ. В емкости объемом 500 мл были помещены объемы среды: 50, 100, 250, 350, 500 мл. Таким образом, соотношения объемов питательной среды и воздуха составили 1 : 10, 1 : 5, 1 : 1, 7 : 3 и 10 : 1. Начальная концентрация глюкозы 20 г/л. Культивирование проводилось при 27 °С в течение 7 суток.

На рисунке 3 представлена зависимость остаточной концентрации редуцирующих веществ от соотношения объемов питательной среды и воздуха на 7 сутки культивирования, на рисунке 4 — зависимость выхода БЦ от соотношения объемов питательной среды и воздуха.

При увеличении объема питательной среды более 50 мл, утилизация глюкозы происходит быстрее. Концентрация неутилизированной глюкозы в других вариантах на 7-е сутки и составляет 2,1–2,4 г/л. Кроме того, при сокращении объемов воздуха глюкоза расходуется нецелевым образом, а выход БЦ уменьшается прямо пропорционально уменьшению объема воздуха: максимальный выход БЦ (10,4%) наблюдается при соотношение объемов питательной среды и воздуха 1 : 10, минимальный (1,2%) — соотношение объемов питательной среды и воздуха 10 : 1.

Можно сделать вывод, что аэрация является лимитирующим фактором в процессе биосинтеза БЦ, недостаток воздуха приводит к кислородному голоданию уксуснокислых бактерий и критическому снижению выхода БЦ.

По результатам работы можно сделать следующие выводы:

– показано, что наибольший выход БЦ достигается при температуре культивирования 24–27 °С и составляет 9%;
– установлено, что аэрация является лимитирующим фактором в процессе биосинтеза БЦ. Максимальный выход БЦ (10,4%) наблюдается при соотношении объемов питательной среды и воздуха 1 : 10.

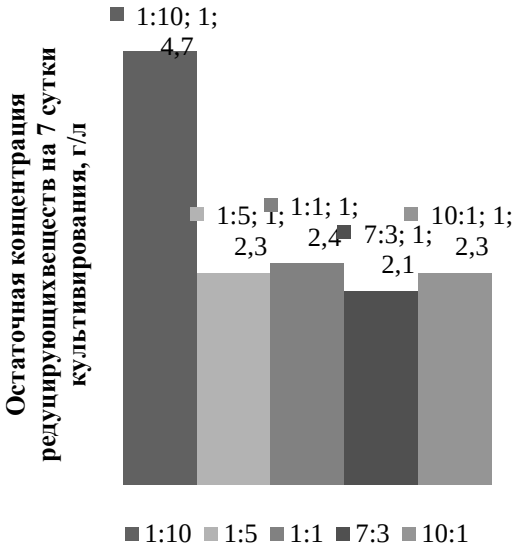


Рис. 3. Зависимость остаточной концентрации редуцирующих веществ от соотношения объемов питательной среды и воздуха

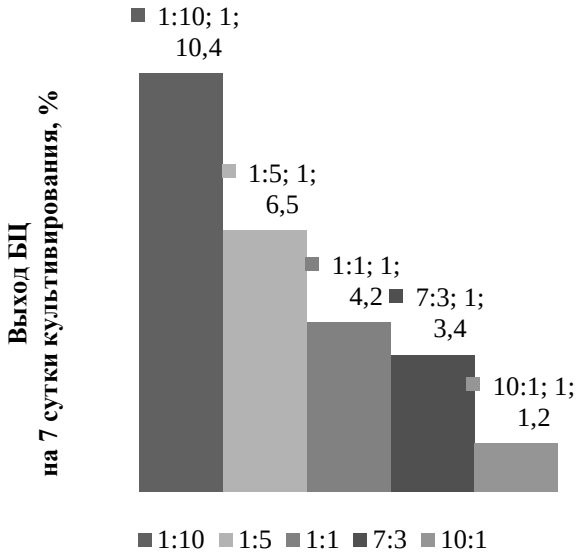


Рис. 4. Зависимость выхода БЦ от соотношения объемов питательной среды и воздуха

Библиографический список

Гладышева Е.К. Обоснование выбора питательной среды для синтеза бактериальной целлюлозы // Вестник алтайской науки. 2014. №1. С. 307–310.

Юркевич Д.И., Кутышенко В.П. Медузомицет (Чайный гриб): научная история, состав, особенности физиологии и метаболизма // Биофизика. 2002. №6. С. 1116–1129.

Belgacem M.N., Gandini A. Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources. Amsterdam, 2008. 553 p.

Koon-Yang Lee, Gizem Buldum, Anthanasios Mantalaris, Alexander Bismarck. More than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Boisynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites // Macromolecular Bioscience. 2014. №6. P. 10–32.

Pokalwar S.U., Mishra M.K., Manwar A.V. Production of cellulose by Gluconacetobacter sp. // Recent Research in Science and Technology. 2010. №2 (7). P. 14–19.

УДК 661.728.7

М.Н. Денисова[1], В.В. Будаева[1], И.Н. Павлов[1], Ю.А. Гисматулина[1], Г.В. Сакович[1], Ю.В. Севастьянова[2]

[1]Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

[2]Северный Арктический федеральный университет им. М.В. Ломоносова (Архангельск, Россия)

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ВОЛОКНИСТЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ — ОБРАЗЦОВ ГИДРОТРОПНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ИЗ НЕДРЕВЕСНОГО СЫРЬЯ*

Исследованы свойства волокнистых полуфабрикатов — образцов гидротропной целлюлозы российского мискантуса и разновидности широко распространенных отходов сельскохозяйственной переработки — плодовых оболочек овса. Показано, что полученные полуфабрикаты относятся к коротковолокнистым и наряду с целлюлозой имеют в своем составе гемицеллюлозы, что должно способствовать их расщеплению и фибриллированию в процессе размола и последующем получении образцов бумаги.

Ключевые слова: гидротропная целлюлоза, мискантус, плодовые оболочки овса, волокнистые полуфабрикаты.

M.N. Denisova[1], V.V. Budaeva[1], I.N. Pavlov[1], Yu.A. Gismatulina[1], G.V. Sakovich[1], Yu.V. Sevastianova[2]

[1]Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

[2]Northern (Arctic) Federal University (Arkhangelsk, Russia)

FUNDAMENTAL PROPERTIES OF FIBROUS SEMI-PRODUCTS — HYDROTROPIC PULP SAMPLES — FROM NON-WOODY BIOMASS

Properties of hydrotropic pulp samples from *Miscanthus* of the Russian origin and from a sort of the abundant agricultural residues, oat hulls, were studied. The resultant pulps were shown to refer to short-fiber ones and, along with the cellulosic constituent, have hemicelluloses in their structure, which should promote their disintegration and fibrillation during the beating process to subsequently produce paper specimens.

***Key words*:** hydrotropic pulp, *Miscanthus*, oat hulls, fibrous semi-products.

Для производства бумаги применяются в основном волокна растительного происхождения, главным компонентом которых является природный полимер — целлюлоза. Целлюлоза обладает рядом ценных свойств для производства бумажной массы: высокой молекулярной массой, цепевидным строением молекул, фибриллярной структурой, высокой прочностью и стойкостью к воздействиям различных химикатов и температуры, гидрофильностью, в том числе высоким сродством к воде и способностью набухать в ней. Благодаря этим свойствам целлюлозы, имеющим большое значение для процессов бумажного производства (размола, диспергирования волокон перед отливом бумажного полотна, образования связей между волокнами в бумажном листе), можно получать однородную по структуре и достаточно прочную бумагу без применения специальных связующих. Важным достоинством целлюлозы является неограниченность сырьевых источников для ее производства и их возобновление. Наряду с применением древесины в производстве бумаги в последние десятилетия все большее значение приобретают недревесные источники

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Главного управления экономики и инвестиций Алтайского края в рамках научного проекта №15-43-04062 «р_сибирь_а».

целлюлозы, такие как стебли однолетних растений (соломы злаков, кукурузы, тростника, багассы, бамбука, трав альфы и эспарто и др.), лубяные волокна однолетних растений (лен, конопля, джут, рами, кенаф, гампи, митсумата и кодзу). Однолетние растения, имеющие небольшую длину волокна, используются в производстве бумаги в сочетании с длинноволокнистыми полуфабрикатами [Иванов, 2006, с. 16]. Актуальность представленной темы обоснована новыми успешными результатами исследования возможности использования недревесных органосольвентных волокнистых полуфабрикатов из кенафа и сорго сахарного в композиции бумаги для печати, картона и бумаги для гофрирования [Барбаш, 2014, с. 271], также данными изучения размерных характеристик волокон пероксидной целлюлозы из пшеничной соломы [Вшивкова, 2013, с. 37] и т.д. Профильные исследования бумагообразующих свойств различных волокнистых материалов [Дернов, 2012, с. 98; Казаков, 2015, с. 6] являются одним из основных научных направлений Северного (Арктического) федерального университета им. М.В. Ломоносова (Архангельск), в котором ЦКП и Инновационно-технологический центр «Современные технологии переработки биоресурсов Севера» (ИТЦ САФУ) сотрудничают с исследователями многих научных организаций и университетов. Предметами интеграционных исследований являются физические основы и методы оценки механического поведения целлюлозно-бумажных материалов, новые технологические решения для повышения уровня механических свойств технической целлюлозы, бумаги, картона, перспективы развития ресурсосберегающих способов получения бумаги и картона из рециркулируемого сырья, применение технологий биорефайнинга и «зеленой» химии в переработке растительного сырья, нанотехнологии в разработке новых бумагоподобных материалов на основе минеральных волокон и полимеров.

Целью настоящей работы является исследование бумагообразующих свойств образцов целлюлозы, полученных гидротропной варкой из российского мискантуса и разновидности широко распространенных отходов сельскохозяйственной переработки — плодовых оболочек овса. Представленная работа носит научно-исследовательский характер и проводится впервые на базе профильного ИТЦ САФУ в связи с отсутствием теоретического прогнозирования и экспериментального подтверждения возможности получения лабораторных образцов бумаги из гидротропной целлюлозы недревесных видов сырья и изучения их характеристик.

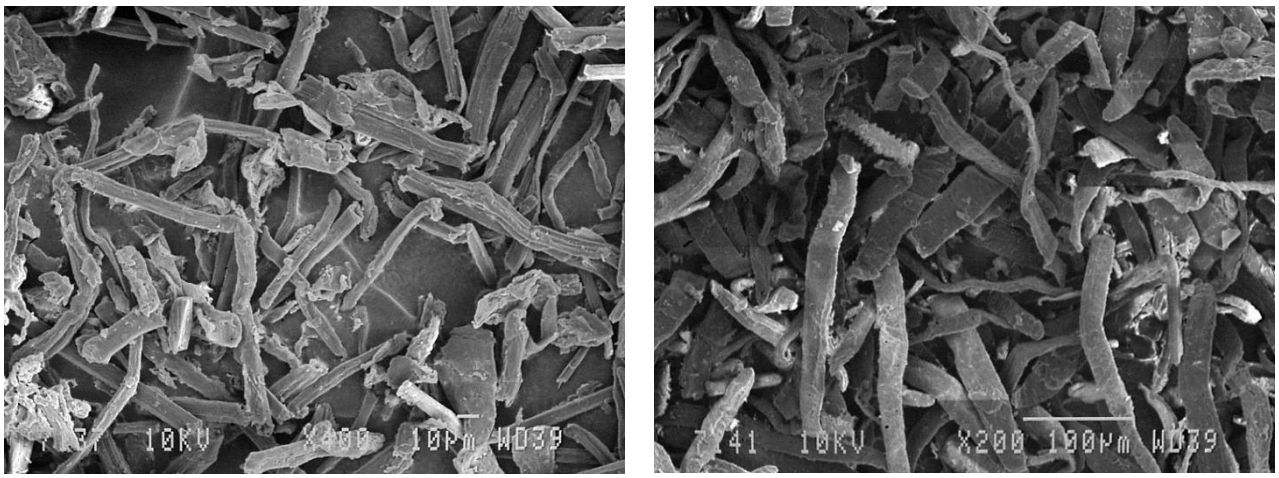
Гидротропная делигнификация предполагает использование нетоксичных реагентов при низких давлениях, вследствие чего относится к экологически безопасным («зеленым») способам получения целлюлозы. Гидротропная переработка, на наш взгляд [Денисова, 2013, с. 545–549], относится к перспективным способам, позволяет не только получить целлюлозу с приемлемым качеством и выходом, но и проводить регенерацию варочного раствора до 90% без больших капитальных затрат с выделением второго полимера — лигнина, гарантируя высокий коэффициент использования недревесного сырья с содержанием нативной целлюлозы на уровне 45%.

Ранее в ИПХЭТ СО РАН были исследованы возможные направления использования образцов гидротропной целлюлозы из мискантуса и плодовых оболочек овса, в частности ферментативный гидролиз [Сакович, 2014, с. 170–174] и синтез нитратов целлюлозы [Корчагина, 2014, с. 461–468]. Ожидаемые научные результаты по получению лабораторных образцов бумаги из волокна, выделенного гидротропным способом из мискантуса и плодовых оболочек овса, характеризуются оригинальностью в связи с отсутствием подобных примеров в отечественной научной литературе.

Образцы технической целлюлозы мискантуса и плодовых оболочек овса были получены в оптимальных условиях гидротропной делигнификации на универсальном термобарическом устройстве: варочный реагент — 35% раствор бензоата

натрия C_6H_5COONa — широко распространенной в пищевой промышленности консервирующей добавки, температура 180 °С, продолжительность 5 ч, модуль 10 : 1 [Денисова, 2013, с. 545–549]. На рисунке представлены фотографии растровой электронной микроскопии при различном увеличении образцов гидротропной целлюлозы мискантуса (*а*) и плодовых оболочек овса (*б*).

Гидротропная целлюлоза представлена отдельными волокнами, имеющими фибриллярную структуру с различной формой волокна для данных видов сырья. При оценке средних размеров волокон исследуемых образцов обнаружено, что несмотря на большую разницу в размерах полученные полуфабрикаты мискантуса и плодовых оболочек овса относятся к коротковолокнистым (длина 50–300 мкм, ширина волокна 8–15 мкм). В них находится значительное количество лубяных волокон, представляющих собой длинные тонкие лентообразной формы клетки с заостренными концами, похожие на волокнистые клетки либриформа лиственной древесины — это наиболее ценные волокна, обладающие хорошими бумагообразующими свойствами. Однако в исследуемых образцах целлюлозы содержится значительное количество менее ценных, с точки зрения бумажного производства, тонкостенных, очень коротких, но широких клеток покровного слоя (эпидермиса), паренхимных, сосудистых клеток и др. [Иванов, 2006, с. 34]. Наличие мелких клеток в полученных волокнистых полуфабрикатах значительно снижает средневзвешенную длину волокна и ухудшает их свойства.



а) б)

Фотографии растровой электронной микроскопии образцов гидротропной целлюлозы мискантуса (*а*) (увеличение 400) и плодовых оболочек овса (*б*) (увеличение 200)

В таблице представлены основные характеристики образцов технической целлюлозы мискантуса и плодовых оболочек овса.

Основные характеристики образцов технической целлюлозы мискантуса и плодовых оболочек овса

Техническая целлюлоза	Массовая доля*,%			
	α-целлюлоза	лигнина	золы	пентозанов
Мискантус	83,9	6,2	3,0	6,5
Плодовые оболочки овса	82,7	6,4	3,1	7,1

Примечание: * — в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Известно, что при повышенном содержании α-целлюлозы волокнистый материал отличается более высокой механической прочностью, химической и термической стойкостью, стабильностью белизны и долговечностью. Но для получения прочного полотна бумаги необходимо, чтобы в технической целлюлозе присутствовали и гемицеллюлозные спутники, так как чистая α-целлюлоза не склонна к фибриллированию и в процессе размола волокон легко рубится. Наличие гемицеллюлоз облегчает фибриллирование, что, в свою очередь, улучшает сцепление волокон в бумажном листе без чрезмерного уменьшения их длины при размоле [Иванов, 2006, с. 23]. Поскольку данные образцы гидротропной целлюлозы не подвергались процессу облагораживания для повышения массовой доли α-целлюлозы и снижения сопутствующих целлюлозе компонентов, то наряду с содержанием α-целлюлозы (до 84%), в исследуемых образцах присутствует значительное количество гемицеллюлоз (до 7%). Благодаря этим особенностям волокна гидротропной целлюлозы мискантуса и плодовых оболочек овса должны легко расщепляться и фибриллироваться при размоле. Наличие лигнина в целлюлозе (6%) придает волокнам жесткость и ломкость и будет способствовать понижению белизны и долговечности бумаги. Содержание золы в образцах целлюлозы, используемых в работе недревесных видов сырья, достигает 3%, что может вызвать затруднения на стадии промышленного производства бумаги и является нежелательным при получении специальных сортов бумаги (электроизоляционной, конденсаторной и др.).

Таким образом, проведенные исследования свойств полученных волокнистых полуфабрикатов предполагают возможность получения лабораторных образцов бумаги с удовлетворительной прочностью. Результаты исследования процесса размола, отливки лабораторных образцов бумаги и определение прочности бумажных отливок (ИТЦ САФУ) прогнозируют области их применения.

Библиографический список

Барбаш В.А., Трембус И.В., Оксентюк Н.Н. Бумага и картон из стеблей кенафа и сорго сахарного // Химия растительного сырья. 2014. №4. С. 271–278.

Вшивкова И.А., Пен Р.З., Каретникова Н.В. Свойства пероксидной целлюлозы из однолетних растений. 3. Размерные характеристики волокон из пшеничной соломы // Химия растительного сырья. 2013. №2. С. 37–41.

Денисова М.Н., Будаева В.В. Характеристики целлюлозы, полученной гидротропным способом на универсальном термобарическом устройстве // Химия в интересах устойчивого развития. 2013. Т. 21, №5. С. 545–549.

Дернов А.И., Дьякова Е.В., Гурьев А.В. Оценка прочности волокон в структуре целлюлозно-бумажных материалов. Косвенные методы испытаний // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия : Естественные науки. 2012. №4. С. 98–107.

Иванов С.Н. Технология бумаги. М., 2006. 696 с.

Казаков Я.В. Характеристики деформативности как основополагающий критерий в оценке качества целлюлозно-бумажных материалов : автореф. дис. … д-ра техн. наук. Архангельск, 2015. 47 с.

Корчагина А.А., Денисова М.Н., Будаева В.В., Золотухин В.Н. Синтез производных гидротропной целлюлозы // Химия в интересах устойчивого развития. 2014. Т. 22, №5. С. 461–468.

УДК 637.352

В.Г. Димитров, Л.Н. Азолкина, М.П. Щетинин

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛЮКОНО-ДЕЛЬТА-ЛАКТОНА В ТЕХНОЛОГИИ СЫРОВ С ЧЕДДЕРИЗАЦИЕЙ И ПЛАВЛЕНИЕМ СЫРНОЙ МАССЫ

Изучена возможность использования глюконо-дельта-лактона в производстве сыров типа «Чечил» и «Паста Филата» как заменителя закваски. Установлена зависимость протекания процесса гидролиза глюконо-дельта-лактона от температуры. Выяснена оптимальная дозировка ГДЛ для данного типа сыров.

Ключевые слова: молоко, чеддеризация, глюконо-дельта-лактон, глюконовая кислота, активная кислотность, вытягивание сгустка.

V.G. Dimitrov, L.N. Azolkina, M.P. Shetinin

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

GLUCONO-DELTA-LACTONE IN TECHOLOGY OF CHEDDARISED CHEESES

Article is studied the possibility of glucono-delta-lactone usage in producing cheeses of “Chechil” and “Pasta Filata” types. The dependence of glucono-delta-lactone hydrolysis process on temperature is clarified. Optimal dosage of GDL for chosen cheese types production is found.

Key words: milk, cheddaring, glucono-delta-lactone, gluconic acid, active acidity, curd stretching.

Основу ассортимента сыров в России традиционно составляют полутвердые сыры со сроком созревания от 30 до 60 дней (голландский, костромской, российский, пошехонский) и, в меньшей мере, сыры со сроком созревания от трех до шести месяцев (швейцарский, горный, алтайский, советский). Расход молока на такие сыры составляет от 11 до 12 л на килограмм сыра. Используемое сырье должно быть только высшего качества. Производственный процесс характеризуется повышенной трудоемкостью и энергоемкостью. Продукция имеет высокую себестоимость, а длительные сроки созревания обусловливают медленный оборот капитала. Ассортимент мягких и полумягких сыров без созревания или с коротким сроком созревания весьма ограничен (адыгейский, любительский, сливочный, брынза) вследствие малого срока их реализации.

В европейских странах развитого сыроделия полумягкие и мягкие сыры без созревания или с коротким сроком созревания составляют большую часть ассортимента сыров. Расход молока для таких сыров составляет 8–9 л на килограмм сыра. Их себестоимость значительно ниже традиционных твердых сыров, а вкусовые характеристики, пищевая и биологическая ценность достаточно высоки.

Российским сыродельным заводам жизненно необходимы новые прогрессивные технологии, которые могут обеспечить производство твердых и полутвердых сыров с коротким сроком созревания (около 15 дней), производство полумягких и мягких сыров с коротким сроком созревания или без него в сочетании с длительным сроком реализации, получение продукции с высокими вкусовыми, пищевыми и биологическими показателями.

Всем этим требованиям отвечают современные технологии производства сыров с чеддеризацией и термомеханической обработкой сырной массы [Велков, 2001, с. 4–5].

Анализ конъюнктуры мирового рынка показывает, что в странах с развитым сыроделием наблюдается устойчивая тенденция производства сыров с чеддеризацией и термомеханической обработкой сырной массы — оно занимает от 60 до 85% от всего объема.

В России уже достаточно широко известны такие сыры со специфической структурой теста — волокнами, похожими на куриную грудку. Это различные косички, плетенки, сыры со слоистой структурой. Эта группа сыров не притязательна к качеству сырья в силу накопления достаточно большого количества молочной кислоты в процессе чеддеризации и дальнейшей термической обработки сгустка. Такие сыры легко обработать копчением и упаковать под вакуумом.

Сущность процесса чеддеризации состоит в накоплении молочной кислоты в сгустке, которая, отщепляя ионы кальция, образующие структурную сетку геля, превращает ее в своеобразную слоистую структуру в сыре.

Оптимальная активная кислотность для чеддеризации лежит в пределах от 5,0 до 5,2 единиц pH. Для правильного приготовления сыра необходимо соблюдать параметры технологического процесса и точно контролировать кислотность, иначе есть риск получить продукт низкого качества либо не получить продукта вовсе — под действием излишней кислотности и температуры сгусток может попросту раствориться.

Продолжительность цикла производства сыров с чеддеризацией и термомеханической обработкой сырной массы во время плавления считается несколько короче, чем полутвердых созревающих сыров — нет 2–3-суточной посолки сыра и созревания в течение нескольких месяцев, тем не менее, в этой технологии имеется длительный процесс чеддеризации — от 2 до 5 часов, который может начинаться еще в сыродельной ванне и затем продолжаться в аппарте для чеддеризации. В сыродельной ванне после внесения заквасочных культур титруемая кислотность смеси должна подняться на 1,5–2 °Т, только после этого вносится сычужный фермент для образования сгустка. Сгусток образуется, как обычно, за 30 мин, далее процесс идет по технологическому регламенту до отделения сыворотки и процесса чеддеризации. После достижения необходимого pH, сгусток подвергается погружению в горячий соленый рассол для посолки и плавления, при этом ему придается определенная форма, например нити, которые заплетаются в косички.

Технологию сыра с ускоренным процессом чеддеризации и плавления описал профессор З.Х. Диланян — сыр чечил является национальным армянским продуктом [Диланян, 1984, с. 280].

В этой технологии процесс чеддеризации почти полностью переносится в молоко-сырье — для его приготовления необходимо использовать кислое коровье или овечье молоко, либо подкислить свежее молоко сывороткой, мацуном, скисшим молоком. Затем под действием молокосвертывающего препарата образуется сычужный хлопьевидный сгусток, а при нагревании неразделенной сырной массы с сывороткой происходит и процесс плавления. В этот момент нити выкладываются на стол, где процесс чеддеризации завершается и сгусток формуется в те же косички, косы, плетенки и мотки из очень тонких нитей.

Для ускорения процесса предлагается использовать глюконо-дельта-лактон (ГДЛ), пищевую добавку, в настоящее время набирающую популярность в молочной промышленности и активно используемую в мясоперерабатывающей отрасли. ГДЛ, попадая в молоко, растворяется с образованием глюконовой кислоты, что понижает pH раствора. Динамика подкисления молока ГДЛ схожа с молочнокислым

брожением: нарастание кислотности происходит с постоянной скоростью, окончание процесса регулируется с помощью температуры [Майоров, 2012].

Исследование влияния температуры показало, что скорость роста кислотности и степень гидролиза ГДЛ, а значит, и конечное значение pH процесса, прямо пропорциональны температуре, при которой происходит реакция.

Результат исследования представлен на рисунке 1.

Для эксперимента были отобраны четыре образца молока, в которые были внесены одинаковые дозы ГДЛ, однако температура термостатирования образцов различна.

Образец №1 выдерживался при температуре 37 °С, образец №2 — при 40 °С, образец №3 — при 43 °С, образец №4 — при 46 °С.

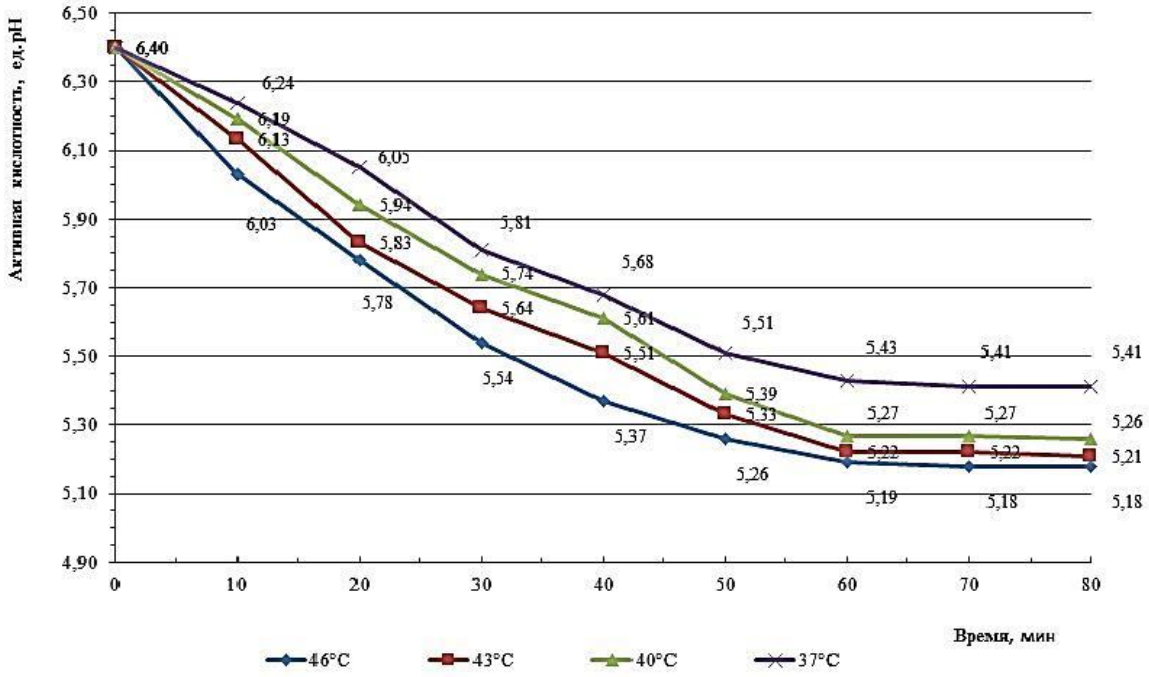


Рис. 1. Влияние температуры на степень гидролиза ГДЛ

Эксперимент показал, что для различных температурных режимов существует собственная точка равновесия реакции, в которой гидролиз ГДЛ останавливается.

Для температуры 37 °С равновесное состояние наступило уже при pH = 5,41, в то время как для образца, выдержанного при температуре 40 °С, это состояние наступило лишь при pH = 5,27.

В образцах с большими температурами наблюдалось еще большее смещение равновесия реакции в сторону продуктов и, следовательно, больший рост кислотности. Таким образом, можно сделать вывод, что «конечная» кислотность раствора ГДЛ зависит от температуры раствора.

В ходе экспериментов было исследовано влияние различных дозировок ГДЛ на свойства продукта. Результаты отражены на рисунках 2 и 3.

Формование сыра разнообразно и ограничивается лишь техническими возможностями: сыр тянется в тонкие нити, возможно формование толстых сырных палочек, шариков. Следует также отметить, что за счет высокой активной кислотности и температуры сырного теста при чеддеризации и термопластификации сыр обладает положительными стартовыми характеристиками по бактериальной обсемененности, а наличие в составе ГДЛ позволяет предотвратить прогоркание продукта.

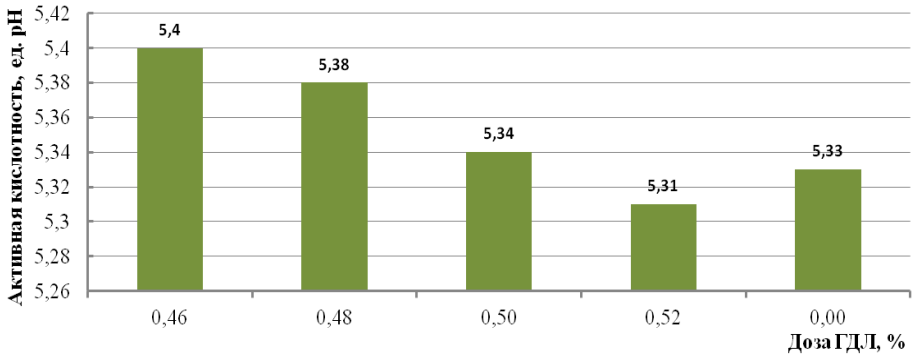


Рис. 2. Влияние дозы ГДЛ на активную кислотность сгустка

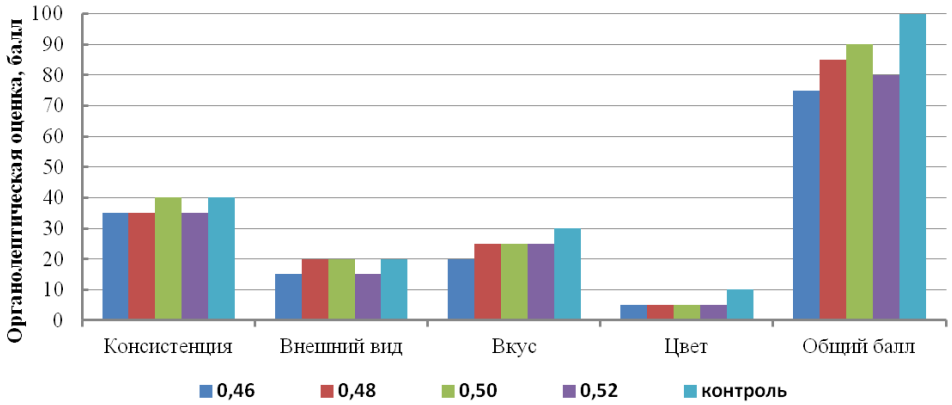


Рис. 3. Органолептические свойства сыра,
выработанного с различными дозами ГДЛ

Таким образом, весь процесс производства сыра — от приемки сырья до упаковки — проходит практически за одну смену.

Рассмотренный способ производства сыра типа чечил имеет определенные перспекивы: без значительных дополнительных затрат на действующих предприятиях возможно организовать выпуск продукта со сравнительно небольшой себестоимостью, на который имеется спрос у потребителей.

На рисунке 3 представлена органолептическая характеристика образцов сыра с различными дозами ГДЛ.

Кроме того, технология имеет достаточно широкие возможности для дальнейших исследований и разработки новых продуктов на ее основе.

Библиографический список

Велков Э.Г. Производство сыров с чеддеризацией и термомеханической обработкой сырной массы // Переработка молока. 2001. №8. С. 4–5.

Диланян З.Х. Сыроделие. 3-е изд., перераб. и доп. М., 1984. 280 с.

Майоров А.А., Мироненко И.М., Яшкин А.И. Исследование возможности использования глюконо-дельта-лактона в технологии мягкого сыра из восстановленного цельного молока // Техника и технология пищевых производств. 2012. №4.

УДК 661.733:57.086.13

В.В. Евелева

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок (Санкт-Петербург, Россия)

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА КОНСЕРВИРОВАНИЯ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРОДУЦЕНТА ПИЩЕВОЙ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

Представлены результаты сравнительных исследований хранения промышленного продуцента молочной кислоты *Lactobacillus delbrueckii*, штамм ВКПМ В-8744. Показано преимущество низкотемпературного метода консервирования продуцента. Разработаны условия хранения, обеспечивающие высокие показатели стабильности таксономических признаков и биосинтетической активности продуцента.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, низкотемпературное хранение.

V.V. Eveleva

All-Russian Research Institute of Food Additives

EFFECTS OF METHOD OF PRESERVATION ON THE CHARACTERISTICS OF THE INDUSTRIAL BACTERIA PRODUCER OF FOOD LACTIC ACID

The results of comparative researches of storage of industrial bacteria producers of lactic acid *Lactobacillus delbrueckii* VKPM B-8744 are presented. The advantage of low-temperature method of preservation for the producer had been shown. The method of storage providing high parameters of activity of industrial bacteria had been developed.

Key words: lactic acid bacteria, low temperature storage.

Решение проблемы сохранения жизнеспособности, морфологических признаков, физиологических характеристик и биохимической активности при максимально возможной продолжительности хранения промышленного продуцента молочной кислоты в настоящее время сводится к поддержанию молочнокислых бактерий в активном состоянии путем периодических пересевов или поддержанием их в состоянии глубокого анабиоза путем лиофилизации с последующим возвратом их к метаболической активности в оптимальных условиях культивирования. В исследовательской и производственной практике широко используются низкотемпературные банки хранения микроорганизмов различных таксономических групп, обеспечивающие их высокую жизнеспособность, биохимическую активность и генетическую стабильность. Показано, что требуемая для производственных условий эффективность длительного хранения продуцентов молочной кислоты достигается при замораживании молочнокислых бактерий при температуре минус 20 °С в стационарной фазе роста, плотности популяции клеток (1–4) × 10^9 кл./$см^3$, присутствии водного раствора глицерина массовой долей 10% и последующем активировании суспензии бактерий быстрым способом при температуре (40 ± 1) °С [Никулина и др., 2012, с. 78–80, табл. 1–3].

Для научно обоснованного выбора способа консервирования молочнокислых бактерий — продуцентов молочной кислоты — в данной работе проведены сравнительные исследования изменения основных характеристик селекционированного во Всероссийском научно-исследовательском институте пищевых добавок промышленного штамма *Lactobacillus delbrueckii* ВКПМ В-8744 [Патент, опубл. 10.09.2006] в процессе длительного хранения в лиофилизованном и замороженном состоянии.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

- оценка влияния способа консервирования на характеристики процесса активирования молочнокислых бактерий;
- исследование процесса биосинтеза молочной кислоты при использовании молочнокислых бактерий после замораживания и хранения при различных температурах;
- исследование показателей продуцента при использовании различных способов консервирования бактерий.

В качестве объектов исследований использовали:

- промышленный продуцент молочной кислоты — молочнокислые бактерии *Lactobacillus delbrueckii* штамм ВКПМ В-8744;
- растворы, полученные при сбраживании сахарсодержащих сред молочнокислыми бактериями исследуемого штамма.

Молочнокислые бактерии культивировали на стерильной сахарсодержащей питательной среде при температуре (50 ± 1) °С. Приготовление питательной среды осуществляли аналогично изложенному в работе [Никулина и др., 2012, с. 78–79]. Суспензию молочнокислых бактерий для консервирования готовили следующим образом: среду, полученную в процессе культивирования молочнокислых бактерий в течение 24…40 ч до достижения стационарной фазы их роста, фильтровали для отделения твердой фазы (солодовых ростков и мела), затем фильтрат центрифугировали для отделения жидкой фазы, а полученный в процессе центрифугирования осадок ресуспендировали небольшим количеством стерильной дистиллированной воды до получения суспензии с титром клеток (1…4) × 10^9 кл./см^3. Замораживание суспензии молочнокислых бактерий проводили в стерильных полиэтиленовых криопробирках емкостью 2 см^3 при температурах минус 20 °С, минус 80 °С и минус 150 °С в морозильных камерах. Для этого в криопробирки вносили 1,0 см^3 суспензии молочнокислых бактерий, содержащей 10% глицерина. Лиофилизация молочнокислых бактерий, включающая предварительное замораживание среды с бактериями при высоких скоростях снижения температуры и последующее сублимационное высушивание в специальных аппаратах под вакуумом, проведена в ФГУП ГосНИИгенетика. Активирование бактерий, консервированных замораживанием, осуществляли путем размораживания их быстрым способом — при температуре (40 ± 1) °С на водяной бане в течение 1 мин, а активирование лиофилизованных бактерий — по рекомендации ФГУП ГосНИИгенетика.

Отбор проб суспензии бактерий для испытаний осуществляли через 1, 4 и 8 месяцев, в пробах определяли жизнеспособность и выживаемость клеток методом серийных разведений с последующим посевом на агаризованную среду. Молочнокислые бактерии инкубировали в термостате при температуре (50 ± 1) °С и подсчитывали количество выросших колоний, принимая за 100% количество колоний в исходной суспензии бактерий (без консервирования).

Процессы активирования молочнокислых бактерий характеризовали следующими показателями: общая продолжительность активирования, кратность пересевов за период проведения процесса и среднесуточное образование лактата кальция. Процесс биосинтеза молочной кислоты и продуктивность продуцента оценивали принятыми в производственной и исследовательской практике методами [Инструкция, 1976, с. 88–126].

В работе проведены исследования влияния способов консервирования на характеристики процесса активирования молочнокислых бактерий *Lactobacillus delbrueckii* штамм ВКПМ В-8744. Выявлено, что лучшие результаты достигаются при использовании замораживания (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика процесса активирования молочнокислых бактерий Lactobacillus delbrueckii штамма ВКПМ В-8744 при использовании различных способов консервирования

Способ консервирования	Общая продолжительность активирования, сут.	Кратность пересевов за период активирования	Среднесуточное образование лактата кальция (г/100 см^3)
Лиофилизация	8	4	0,03 ± 0,01
	15	8	0,60 ± 0,02
	27	13	1,20 ± 0,03
	34	17	3,11 ± 0,02
Замораживание при температурах:			
минус 20 °С	3	1	3,19 ± 0,03
минус 80 °С	3	1	3,12 ± 0,02
минус 150 °С	3	1	3,01 ± 0,03

Общая продолжительность активирования продуцента после замораживания при однократном пересеве за период активирования до достижения промышленно значимого уровня среднесуточного образования лактата кальция (свыше 3г/100 см^3) составила около 3 сут., в то время как при использовании лиофилизации — более 30 сут. после многократных пересевов. Экспериментально показано, что консервирование лиофилизацией в меньшей степени защищает культуру от разрушения отдельных клеток при отвердевании среды с бактериями.

Изменение показателей процесса биосинтеза молочной кислоты изучено при температурах замораживания продуцента и его хранения: минус 20 °С, минус 80 °С и минус 150°С. Установлено, что снижение температуры от минус 20 °С до минус 150 °С при криоконсервировании бактерий с исходной плотностью популяции $1 \cdot 10^9$ кл./см^3 в стационарной фазе роста в присутствии глицерина при продолжительности хранения от 1 до 8 мес. не приводит к существенному снижению характеристик клеток продуцента (табл. 2).

Так, через 8 месяцев хранения выживаемость молочнокислых бактерий, замороженных при минус 20 °С, составляет 37,5%, при минус 80 °С — 33,1%, минус 150 °С — 32,4%; продуктивность — соответственно 3,17, 3,16 и 3,12 г/(дм^3·ч).

Изучение морфологических свойств молочнокислых бактерий при использовании различных температурных режимов криоконсервирования не выявило существенных различий в размере и форме клеток бактерий, подвергающихся криоконсервированию при температурах минус 20 °С, минус 80 °С и минус 150 °С, от исходных интактных клеток. Молочнокислые бактерии представляли собой грамположительные неспорообразующие неподвижные, тонкие, прямые палочки с закругленными концами, одиночные, в коротких цепочках (чаще по 2–3 клетки), отдельные клетки расположены под углом друг к другу.

Не обнаружены клетки с аномальной морфологией. При посеве на твердую питательную среду бактерии образуют глубинные колонии — плотные, темные чечевички в форме линз или треугольников. Поверхностные колонии — круглые, плоские, до 2 мм в диаметре, белесые. Вокруг колоний образуются зоны просветления мела диаметром до 5 мм. Величина клеток в двухсуточной культуре на жидкой среде (солодовом сусле) — (6–7) × (0,5–0,6) мкм.

Таблица 2

Показатели процесса биосинтеза молочной кислоты при использовании молочнокислых бактерий после замораживания и хранения при температурах минус 20 °С, минус 80 °С и минус 150 °С

Наименование показателя	Значение показателя при продолжительности хранения, мес.		
	1	4	8
Температура замораживания и хранения минус 20 °С			
Выживаемость молочнокислых бактерий, %	33,6	33,4	37,5
Продуктивность молочнокислых бактерий, г/(дм^3·ч)	3,45	3,26	3,17
Температура замораживания и хранения минус 80 °С			
Выживаемость молочнокислых бактерий, %	31,3	31,4	33,1
Продуктивность молочнокислых бактерий, г/(дм^3·ч)	3,38	3,23	3,16
Температура замораживания и хранения минус 150 °С			
Выживаемость молочнокислых бактерий, %	27,1	30,3	32,4
Продуктивность молочнокислых бактерий, г/(дм^3·ч)	3,30	3,14	3,12

Таким образом, на основе установленных изменений характеристик промышленного продуцента молочной кислоты *Lactobacillus delbrueckii штамм ВКПМ В-8744* выявлено преимущество низкотемпературного метода консервирования коллекционного штамма, обеспечивающего сохранность характеристик исходного штамма, возможность использования продуцента в технологическом процессе в первом цикле после размораживания без длительной процедуры восстановления его активности по сравнению с лиофилизацией.

Библиографический список

Никулина И.Д., Каменькова Н.В., Евелева В.В., Черпалова Т.М. Исследование выживаемости и биосинтетической активности промышленного продуцента молочной кислоты *Lactobacillus delbrueckii* в процессе низкотемпературного хранения // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2012. №6. С. 78–80.

2. Патент 2283345 РФ, МПК C12N 1/120, C12P 7/56, C12R 1/225 Штамм молочнокислых бактерий *Lactobacillus delbrueckii* — продуцент молочной кислоты / А.П. Бочкова, В.В. Евелева, патентообладатель — Государственное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых ароматизаторов, кислот и красителей Российской академии сельскохозяйственных наук. №2004129918/13; заявл. 14.10.2004; опубл. 10.09.2006.

3. Инструкция по биологическому и химическому контролю производства молочной кислоты. Л., 1976. 216 с.

УДК 665.1/3(045)

Е.Ю. Егорова[1], М.С. Бочкарев[1], С.Н. Цыганок[2]

[1]Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

[2]Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова (Бийск, Россия)

К ВОПРОСУ ОБ ЭФФЕКТИВНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВТОРИЧНЫХ РЕСУРСОВ МАСЛОЖИРОВОЙ ОТРАСЛИ

Поиск эффективных технологий переработки вторичных сырьевых ресурсов является актуальной задачей на современном этапе развития отечественной промышленности. Статья посвящена проблемам повышения эффективности переработки зерна масличных культур и рационального использования вторичного сырья — растительных масел, не соответствующих требованиям к пищевой продукции, жмыхов и шротов. Рассмотрены современные подходы к разработке схем комплексной промышленной переработки вторичного сырья, определены критерии, которым оно должно соответствовать.

Ключевые слова: масличное сырье, растительное масло, жмыхи зерна масличных культур, шроты зерна масличных культур, вторичное сырье, пищевая ценность, техническая ценность, комплексная переработка.

E.Yu. Egorova[1], M.S. Bochkarev[1], S.N. Tsyganok[2]

[1]Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

[2]Biysk Technological Institute (branch) Altai State Technical University I.I. Polzunov (Biysk, Russia)

TO THE QUESTION OF EFFECTIVE USE OF SECONDARY RESOURCES OF OIL AND FAT INDUSTRY

The search for effective technologies of processing of secondary raw material resources is an actual task at the present stage of development of the domestic industry. The article is devoted to the problems of improving the efficiency of grain processing oilseed crops and rational use of secondary raw materials — vegetable oils, inappropriate to requirements to food products, cakes and meal. Modern approaches to the development of integrated industrial processing of secondary raw materials, determined the criteria that it must meet.

***Key words*:** oilseed raw materials, vegetable oil, oil-cakes of grain oilseeds, oilseed meals grain oilseeds, secondary raw materials, nutritional value, technical value, complex processing.

Эффективное использование вторичных сырьевых ресурсов является актуальной задачей на современном этапе развития отечественной промышленности, в связи с чем проектирование и внедрение в промышленные условия схем комплексной переработки сырья следует считать одной из приоритетных задач. Важная роль в решении данного вопроса отводится разработке технологий, основанных на более глубокой переработке пищевого сырья.

В последние годы предприятиями отечественной масложировой промышленности используется сырье, достаточно разнообразное по химическому составу и технологическим характеристикам. На территории Алтайского края в этом качестве перерабатываются семена подсолнечника и зерно сои, орехи грецкие и кедровые, семена кунжута, расторопши, льна, тыквы, амаранта, черного тмина, виноградная косточка, плоды облепихи и некоторые другие виды традиционного и нетрадиционного для России масличного сырья. Принятые технологические схемы переработки перечисленных видов масличного сырья предусматривают выработку

масла растительного (в ассортименте) высшего, первого и второго сорта (второй сорт — техническое назначение), жмыхов пищевого и непищевого назначения, шротов непищевого назначения с выделением лузги (скорлупа орехов и подсолнечника, пленка зерна сои и т.п.) в качестве продукции преимущественно технического назначения или отходов производства.

Как было отмечено ранее, рациональная переработка пищевого сырья — и зерно масличных культур не исключение — должна основываться на комплексном подходе, учитывающем такие критерии, как химический состав, безопасность, органолептические свойства, технологическая пригодность и экономическая целесообразность использования основного сырья и вторичных сырьевых ресурсов [Егорова, 2012]. Основополагающими факторами в формировании качества любой продукции являются сырье и технология, поэтому обоснование новых рецептур, в которые могут быть введены масло, жмыхи, шроты и лузга масличных культур, должно базироваться на данных о химическом составе, безопасности, технологических свойствах, пищевой и технической ценности этого вторичного сырья.

Основными направлениями переработки *растительных масел, не отвечающих требованиям к пищевой продукции,* являются производство олифы, лакокрасочных составов и топлив. Однако в случаях, когда показатели качества и безопасности произведенного масла не удовлетворяют требованиям действующих НД незначительно, а масло представляет собой естественный источник биологически активных компонентов — полиненасыщенных жирных кислот, витаминов, фосфолипидов и стеринов — оно может быть направлено на нужды косметической промышленности.

Наиболее активно прорабатываемой областью использования *жмыхов и шротов*, остающихся после переработки зерна масличных культур на масло, является их применение в качестве источника пищевого белка [Антипова, 2013; Григорьева, 2007; Ханфер, 2005; Шульвинская, 2007] или пищевых волокон [Басий, 2004; Enzifst, 2014].

Однако жмыхи и шроты зерна некоторых масличных культур могут содержать так называемые антипитательные вещества, ограничивающие их пищевое применение по причине низкой усвояемости или способности вызывать аллергические реакции. Наличие таких веществ отмечается, в частности, в продуктах переработки бобовых (зерно сои) и крестоцветных культур (рыжик, сурепка и т.д.). Накопленные в XIX в. справочные данные несут информацию об устаревших ботанических сортах, которые сегодня практически не культивируются в промышленных масштабах, и это определяет необходимость контроля и сбора новых статистических данных по содержанию антипитательных веществ в перерабатываемом масличном сырье и белоксодержащих продуктах его переработки. Кроме того, всем масличным жмыхам и шротам свойственно неупорядоченное течение деструктивных, гидролитических и окислительных процессов, присущих разрушенным клеткам любого масличного сырья. Одним из технологических решений этой проблемы для предприятий может стать переработка масличного сырья небольшими партиями, позволяющая получать продукцию с очень низкими значениями показателей окислительной порчи, что в условиях крупнотоннажного производства практически недостижимо.

Детализация химического состава масличных жмыхов и шротов и определение технических требований к этому сырью [Егорова, 2014] дают возможность пищевого использования рассматриваемых вторичных сырьевых ресурсов с учетом градации по технологическим свойствам и определяющим пищевую ценность жмыхов и шротов макрокомпонентам:

- при преобладании компонентов «белки + липиды» — майонезные и молочно-растительные продукты. При этом сочетании преобладающих компонентов белки жмыхов и шротов будут проявлять необходимые эмульгирующие, водо- и жироудерживающие свойства, полиненасыщенные жирные кислоты жмыхов — обогащать состав продуктов, а мешающее влияние углеводов и пищевых волокон будет менее выраженным;
- при преобладании компонентов «белки + углеводы» жмыхи и шроты можно включать в рецептуры молочно-растительных (мороженое, десерты, пасты, творожные продукты) и мясорастительных продуктов (например, паштеты), сахаристых и мучных кондитерских изделий, пищевых концентратов. Здесь жмыхи и шроты будут рассматриваться только как разновидность энергоемкого наполнителя;
- при преобладании компонентов «белки + пищевые волокна» наиболее перспективным направлением использования масличных жмыхов и шротов представляется производство хлебобулочных и мучных кондитерских изделий, для которых внесение источников пищевых волокон является традиционным направлением модификации рецептуры с целью производства новых наименований продукции.

Как одно из перспективных направлений переработки масличных жмыхов и шротов сегодня можно рассматривать и получение напитков на суспендированной и эмульсионной основе. В сравнении с достаточно крупными мицеллами казеина сухого молока, мелкие частицы масличных жмыхов и шротов представляют собой более технологичное сырье, достаточно равномерно распределяющееся в пищевых массах с различными структурно-механическими характеристиками. В обычных условиях получение напитков на основе масличных жмыхов и шротов приводит к образованию осадка или жидкофазному расслоению — в зависимости от специфики концентрирования молекулярных компонентов, как это характерно для традиционного белоксодержащего сырья [Молочников, 2008]. Использование ультразвука для получения напитков на основе масличных жмыхов и шротов позволяет получить стабильные эмульсии с повышенным содержанием растворимых сухих веществ, перешедших в мицеллированную форму [Хмелев, 2010]. Устойчивость эмульсий, обработанных ультразвуком (рис., *б*), превосходит стойкость эмульсий, полученных без применения эффекта кавитации (рис., *а*), а полученные таким способом напитки не расслаиваются до 10–12 ч.

а) *б)*

Эмульсии на основе кедрового жмыха (10% раствор):
а) без обработки; *б)* 2 мин обработки

В зависимости от вида используемых масличных жмыхов или шротов может быть получен напиток молочно-белого, кремового или зеленоватого цвета, с характерным привкусом и ароматом орехов или тыквенных семян, обладающий соответствующей пищевой ценностью.

Лузга зерна масличных культур при удовлетворении требованиям безопасности может рассматриваться в качестве источника нерастворимых пищевых волокон — одного из важнейших ингредиентов для разработки функциональных продуктов питания.

Комплексность переработки масличного сырья, основанная на рациональном использовании так называемых вторичных сырьевых ресурсов — несоответствующих требованиям к пищевой продукции растительных масел, жмыхов и шротов масличных культур, — позволяет минимизировать количество отходов производства, снижая экологическую нагрузку на территорию перерабатывающих предприятий и регионов в целом, обусловливая расширение ассортимента вырабатываемой продукции, в определенной степени способствуя увеличению производственных мощностей и решению задачи трудоустройства населения. Поэтому проблема комплексной переработки стоит более остро и должна решаться прежде всего на региональном уровне. В этих условиях разработка и внедрение в промышленные условия прогрессивных промышленных технологий и схем комплексной переработки масличного сырья дает дополнительные возможности в решении задач государственного значения.

Библиографический список

Антипова Л.В., Мартемьянова Л.Е. Оценка потенциала источников растительных белков для производства продуктов питания // Пищевая промышленность. 2013. №8. С. 10–12.

Басий Н.А., Мартовщук В.И., Мартовщук Е.В., Мхитарьянц Г.А., Сакун Г.В. Обоснование комплексной переработки виноградных семян с получением пищевого масла // Известия вузов. Пищевая технология. 2004. №1. С. 44–45.

Григорьева А.Л. Изучение биохимического состава, биологической ценности и структуры белковых продуктов, полученных из жмыхов семян льна : автореф. … канд. биол. наук. Тверь, 2007. 24 с.

Егорова Е.Ю. Комплексная переработка плодово-ягодного сырья: методические подходы // Хранение и переработка сельхозсырья. 2012. №5. С. 12–15.

Егорова Е.Ю., Бочкарев М.С., Резниченко И.Ю. Определение технических требований к жмыхам нетрадиционных масличных культур пищевого назначения // Техника и технология пищевых производств. 2014. №1. С. 131–138.

Молочников В.В., Орлова Т.А. Современные подходы к получению растворимых белковых концентратов // Переработка молока. 2008. №4. С. 52–54.

Ханфер Р., Щербаков В.Г. Тыквенные семена — перспективный источник пищевого белка // Известия вузов. Пищевая технология. 2005. №5–6. С. 44–46.

Хмелев В.Н., Цыганок С.Н., Барсуков Р.В., Сливин А.Н. Применение ультразвуковых колебаний высокой интенсивности в промышленности. Бийск, 2010. 200 с.

Шульвинская И.В., Доля О.А., Широкорядова О.В. Композиционные белковые добавки из семян масличных и бахчевых растений // Известия вузов. Пищевая технология. 2007. №5–6. С. 40–42.

Enzifst L.E., Bveo M.E. Flaxseed (Linseed) fibre — nutritional and culinary uses — a review // Food New Zealand. 2014. Iss.: april/may. P. 26–28.

УДК 579.252.55:615.332:579.25:577.212.3

А.Н. Иркитова[1], С.А. Юрик[2], Ю. А. Горбунов[2], В. И. Семенихин[2]

[1]Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия (Барнаул, Россия)

[2]Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (Новосибирск, Россия)

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ МАРКИРОВАНИЕ ЛАКТОБАКТРИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Разработаны на основе анализа геномов референтных штаммов синтетические олигонуклеотидные праймеры Lbul4F и Lbul5R, Lacid1F и Lacid2R, Stt1F и Stt2R, обладающие специфичностью и позволяющие эффективно проводить идентификацию штаммов и культур *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Streptococcus thermophilus* как в заквасочных культурах, так и в готовых кисломолочных продуктах. Подтверждена специфичность тестируемых фрагментов ДНК путем секвенирования и сравнения методом выравнивания с другими опубликованными последовательностями полных геномов референтных штаммов данных культур.

Ключевые слова: штамм, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus*, праймер.

A.N. Irkitova[1], S.A. Yurik[2], Y.A. Gorbunov[2], V.I. Semenikhin[2]

[1]Siberian research Institute of cheesemaking (Barnaul, Russia)

[2]Institute of experimental veterinary science of Siberia and the Far East (Novosibirsc, Russia)

MOLECULAR-GENETIC MARKING LACTOBACTERIAS ARE USED IN THE PRODUCTION DAIRY PRODUCTS

Synthetic oligo- nucleotide primers Lbul4F and Lbul5R, Lacid1F and Lacid2R, Stt1F and Stt2R are developed based on the analysis of the genomes of etalon strains. The primers have the specificity and to effectively carry out the identification of strains and cultures of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophilus* in starter cultures and finished dairy products . A confirmation — specificity of the test DNA fragments by sequencing and comparison method — house alignment with other published sequences of complete genomes etalon strains of these cultures.

Key words: strain, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, primer.

Лактобактерии — самая распространенная группа заквасочных микроорганизмов, которая используется в пищевой промышленности, в том числе при переработке молока. При изготовлении кисломолочных продуктов в качестве заквасок из термофильных лактобактерий чаще всего используют следующие микроорганизмы: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus acidophilus*. Эти молочнокислые бактерии входят в состав бактериальных заквасок для приготовления йогурта, ряженки, варенца, сметаны, ацидофилина и многих других продуктов, в том числе пробиотического назначения. На протяжении многих десятилетий основным способом типирования штаммов лактококков и лактобацилл были классические способы микробиологических исследований, которые очень трудоемки и не всегда отвечают современным требованиям [Берджи, 1997, с. 560–566].

В настоящее время все чаще для определения видовой принадлежности лактобацилл применяется ПЦР, с помощью которой осуществляется синтез генов 16S rRNA. Затем ампликоны подвергают гидролизу эндонуклеазами. Фрагменты ДНК

анализируют с использованием импульсного гель-электрофореза (PFGE). Данный подход идентификации позволяет определить род лактобацилл [Guan, 2007, с. 450–455]. Другим вариантом идентификации *Streptococcus thermophilus* является способ генотипирования по гену 16S rRNA. При этом осуществляется синтез и секвенирование последовательности гена 16S rRNA. Затем проводится сравнение последовательности данного гена с последовательностями, характерными для *Streptococcus thermophilus* из базы данных GenBank [Ботина, 2008, с. 59].

При определении видовой принадлежности *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* применяется способ генотипирования, включающий синтез ДНК межгенной вставки 16S-23S rRNA с последующим гидролизом ее 11 эндонуклеазами и сравнение полученных паттернов с референтными штаммами. Этот прием позволяет различать почти все изолируемые культуры на уровне вида, но не подвида [Moreira, 2005, с. 1–9]. К недостаткам данных способов можно отнести необходимость проведения гидролиза и секвенирование ампликонов, сравнение каждого с базой данных GenBank, в результате мы имеем длительность процесса тестирования и его высокую стоимость.

Целью наших исследований было разработать способ маркирования нуклеотидных последовательностей при помощи специфических синтетических олигонуклеотидных праймеров в ПЦР с использованием в качестве молекулярной мишени ДНК генов, характерных соответственно только для *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, для *Streptococcus thermophilus* и для *Lactobacillus acidophilus*.

Материалы и методы исследований. Исследованию были подвергнуты коллекционные культуры лактобактерий из лаборатории микробиологии СибНИИС (Барнаул). Для выделения ДНК использовали модифицированный нами фенольный метод депротеинизации ДНК из суспензии штаммов и культур, выращенных на средах Бликфельдта и MRS.

Определение нуклеотидных последовательностей генов, характерных соответственно только для *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, для *Streptococcus thermophilus* и для *Lactobacillus acidophilus* проводили методом выравнивания, а для анализа праймеров по уровню свободной энергии использовали программу OLIGO 4.0. Химический синтез праймеров осуществляли амидофосфитным методом на автоматическом синтезаторе ASM–102U (Biosset Ltd, Новосибирск).

Постановку ПЦР проводили на амплификаторах «Бис» М–105. О результатах судили по размеру синтезированного фрагмента ДНК, мигрирующего в 1,0% геле агарозы при силе тока 35–40 мА. В качестве маркера использовали ДНК pBLSKII(+), гидролизованную MspI. Полученные результаты документировали с помощью цифровой фотокамеры. Результат ПЦР считали положительным, если продукт реакции соответствовал ожидаемому размеру фрагмента ДНК.

Секвенирование ампликонов выполнили по двум цепочкам ДНК, используя общепринятые методики Т. Маниатис, Э. Фрич, Д. Сэмбрук [Маниатис и др., 1984, с. 157–240] и Максама — Гилберта [Maxam et al., 1980, p. 499–550].

Результаты исследований и обсуждение. Выбор генов, характерных для соответствующих штаммов, проводили на основе анализа полных геномов референтных штаммов *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*: ATCC11842, ATCC BAA-365, ND02 и 2038; *Streptococcus thermophilus*: LMG18311, CNRZ1066 и LMD9 и *Lactobacillus acidophilus NCFM*, представленных в базе данных GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ GenBank Search.html). По результатам поиска были выбраны и синтезированы олигонуклеотидные праймеры для Lbul4F и Lbul5R, Stt1F и Stt2R, Lacid1F и Lacid2R. Концентрацию специфических олигонуклеотидных праймеров в маточном растворе определяли спектрометрическим методом.

При выделении ДНК из бактериальной культуры клетки осаждали в бляшку центрифугированием 1–2 мин при 5000–7000 об/мин. Надосадочную жидкость удаляли, 50 мкл культуры добавляли к 300 мкл модифицированного раствора фенола, перемешивали и выдерживали при +95 °С в течение 5 мин. Затем проводили экстракцию хлороформом. Осаждение ДНК из водной фазы осуществляли этанолом, затем высушивали и растворяли в 30–50 мкл автоклавированной бидистиллированной воды.

Полимеразную цепную реакцию проводили в объеме 25 мкл, используя 10Х стандартный буфер pH 8,8; соответствующие праймеры; 2,5 мМ dNTP, 0,5 е.а. Taq-ДНК полимеразы; 2 мкл пробы ДНК. Программа амплификации состояла из 42 циклов, в том числе по одному циклу прогревания при 95 °С и досинтеза при 72 °С. Отжиг праймеров проходил при 60 °С.

Продукты ПЦР визуализировали методом электрофореза в трис-боратном буфере с бромистым этидием. Гель просматривали на трансиллюминаторе с длиной волны 254 нм. Результат ПЦР считали положительным, если продукт ПЦР соответствовал размеру фрагмента ДНК, синтезированного праймерами Lbul4F и Lbul5R для *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* в 409 н.п., Lacid1F и Lacid2R для *L.* acidophilus в 412 н.п. и Stt1F и Stt2R для St. thermophilus в 665 н.п.

Результаты исследований по определению специфичности реакции с соответствующими праймерами, представленные в таблице, показывают, что положительные анализы продуктов ПЦР получали только тогда, когда в качестве матрицы использовали ДНК, фрагмент которой характерен только для *L. delbrueckii subsp. bulgaricus,* или *L. acidophilus*, или *St. thermophilus*. Анализы были отрицательными, когда использовали ДНК других бактерий.

Результаты исследований по определению специфичности реакции ПЦР с праймерами Lbul4F–Lbul5R, Lacid1F–Lacid2R и Stt1F–Stt2R

№ п/п	Наименование культуры	ПЦР с праймерами		
		Lbul4F-Lbul5R	Lacid1F-Lacid2R	Stt1F-Stt2R
1	Staphylococcus albus	–	–	–
2	Staphylococcus aureus	–	–	–
3	Streptococcus epidermitis	–	–	–
4	Streptococcus pyogenes	–	–	–
5	Escherihia coli	–	–	–
6	Lactococcus lactis subsp. lactis C9182	–	–	–
7	Lactococcus lactis subsp. cremoris 3M-5	–	–	–
8	Lactobac. delbrueckii subsp. bulgaricus 630	+	–	–
9	Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus 317/402и	+	–	–
10	Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus 317/402в	+	–	–
11	Lactobacillus acidophilus La 5	–	+	–
12	Lactobacillus acidophilus Lacid 2/5 изолят	–	+	–
13	Lactobacillus acidophilus Lacid 3/5 изолят	–	+	–
14	Streptococcus termophilus 28-2	–	–	+
15	Streptococcus thermophilus 124_4	–	–	+
16	Streptococcus thermophilus 125_4	–	–	+
17	Дистиллированная вода	–	–	–

Для подтверждения специфичности тестируемого в ПЦР фрагмента ДНК наработали фрагменты ДНК на матрицах *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* 630,

L. acidophilus La-5 и *St. thermophilus* 1244 и осуществили секвенирование и выравнивание с опубликованными последовательностями. Установили их совпадение с опубликованными нуклеотидными последовательностями референтных штаммов.

Таким образом, на основе анализа геномов референтных штаммов разработаны синтетические олигонуклеотидные праймеры Lbul4F и Lbul5R, Lacid1F и Lacid2R, Stt1F и Stt2R, обладающие специфичностью и позволяющие эффективно проводить идентификацию штаммов и культур *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. acidophilus* и *St. thermophilus* как в заквасочных культурах, так и готовых кисломолочных продуктах.

Библиографический список

Определитель бактерий Берджи. Т. 2 / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльмса. М., 1997. С. 560–566.

Ботина С.Г. Штаммы Streptococcus thermophilus, ферментирующие галактозу // Молочная промышленность. 2008. №4. С. 59.

Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. // Молекулярное клонирование. М., 1984. С. 157–240.

Guan L.L. Detection of Lactobacillus Acidophilus species in the gut of chickens // Zootecnica internacional. 2007. №35. P. 450–455.

Moreira J.L. Identification to the species level of Lactobacillus isolated in probiotic prospecting studies of human, animal or food origin by 16S-23S rRNA restriction profiling // BMC Microbiology. 2005. V. 5, №15. P. 1–9.

Maxam F.M., Gilbert W. // Methods in Ensymology. 1980. V. 65. P. 499–550.

УДК 539.16:549.25

А.К. Какимов, Ж.Х. Какимова, А.Е. Бепеева, Ж.С. Есимбеков

Государственный университет им. Шакарима города Семей (Семей, Казахстан)

ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕПЕНИ НАКОПЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ

Приводятся результаты исследования степени накопления тяжелых металлов в продуктах питания, полученных в Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан. Было установлено, что технологическая обработка сырья при производстве пищевых продуктов по-разному влияет на содержание в них токсикоэлементов. Полученные данные свидетельствуют о том, что необходимы дальнейшее изучение степени накопления тяжелых металлов в пищевых продуктах и разработка технологических приемов для их понижения.

***Ключевые слова*:** тяжелые металлы, контаминация, молоко, творог, масло, подсолнечное масло.

A.K. Kakimov, Zh.H. Kakimova, A.Y. Bepeyeva, Zh.S. Yessimbekov

State University named after Shakarim (Semey, Kazakhstan)

INVESTIGATION OF THE DEGREE OF ACCUMULATION OF HEAVY METALS IN FOODSTUFFS

The article presents the results of a study of the degree of accumulation of heavy metals in foodstuffs of the East Kazakhstan region of Republic of Kazakhstan. It was found that processing of raw materials in the production of food has a different effect on the content of toxic elements. Obtained results suggests that further study of the extent of accumulation

of heavy metals in food products and developing techniques for their reduction is necessary.

***Key words*:** heavy metals, contamination, milk, cottage cheese, cow butter, sunflower oil.

На основании проведенных исследований степени накопления свойственных для Семейского региона Восточно-Казахстанской области тяжелых металлов в молочном сырье установлено, что молоко коров по содержанию солей тяжелых металлов (кадмия, свинца, цинка и меди) сильно отличается по зонам антропогенного воздействия. Качество готовой продукции зависит от уровня экологической чистоты исходного сырья.

Для определения степени накопления солей тяжелых металлов в продуктах питания в лабораторных условиях были выработаны молочные продукты из молочного сырья с изученным содержанием свинца, кадмия, цинка, меди, отобранного из 20 дворов каждого исследуемого населенного пункта.

Для определения степени перехода исследуемых элементов в молочные продукты в зависимости от их фазового распределения в полидисперсной системе молока также были выработаны три вида молочных продуктов: пастеризованное молоко, творог, сливочное масло.

На основании проведенных исследований установлено, что содержание исследуемых элементов в пастеризованном молоке в процессе его выработки не изменилось и содержание кадмия, свинца в готовом продукте не превышает допустимо установленных норм (ПДК кадмия в пастеризованном молоке 0,03 мг/кг, свинца — 0,1 мг/кг) [Какимов и др., 2013, с. 71–83].

В процессе переработки обезжиренного молока свинец в значительной степени переходит в творог нежирный (в среднем 32%) в сравнении с другими исследуемыми элементами. При этом содержание свинца превышает предельно допустимую концентрацию в 1,04–1,7 раза (ПДК свинца для творога 0,3 мг/кг) в готовом обезжиренном твороге, выработанном из молочного сырья коров сел Урджар, Науалы и Кабанбай Урджарского района. Содержание свинца в образцах обезжиренного творога из молока коров с. Урджар составило 0,506 мг/кг, Науалы — 0,312 мг/кг, Кабанбай — 0,234 мг/кг. Содержание кадмия в обезжиренном твороге, выработанном из сырья коров исследуемых районов, не превышает предельно допустимых норм. Необходимо отметить, что при производстве творога содержание кадмия в готовом продукте в пересчете на сухое вещество увеличивается в среднем на 7–14%. Так, наибольшее содержание кадмия 0,029 мг/кг обнаружено в обезжиренном твороге, выработанном из молока коров г. Аягоз, где содержание кадмия составило 0,027 мг/кг. На 14% увеличилось содержание кадмия в обезжиренном твороге (0,024 мг/кг), выработанном из молока (0,021 мг/кг) коров с. Медеу Абайского района.

Содержание же цинка и меди в обезжиренном твороге уменьшилось в процессе переработки образцов молочного сырья. Так, наибольшее содержание меди (6,3 мг/кг) обнаружено в молоке коров с. Кабанбай Урджарского района. В процессе выработки из него обезжиренного творога содержание меди уменьшилось в готовом продукте до 6,02 мг/кг [Kakimov et al., 2013].

Наибольшее содержание цинка (0,7 мг/кг) установлено в молоке коров с. Науалы Урджарского района. В процессе выработки из него обезжиренного творога содержание цинка уменьшилось в готовом продукте до 0,66 мг/кг [Какимов и др., 2013, с. 72–79].

Результаты экспериментальных исследований показывают, что токсичные элементы, содержащиеся в исходном молоке, в зависимости от проявляемых ими химических свойств переходят в сливочное масло в разных соотношениях.

Наибольшее содержание кадмия обнаружено в молоке коров с. Аугоз (0,027 мг/кг) в количестве, не превышающем предельно допустимого уровня (ПДК 0,03 мг/кг). При переработке молока в сливочное масло содержание кадмия в готовом продукте, в пересчете на сухое вещество, составило 0,033 мг/кг, превышая предельно допустимый уровень содержания исследуемого элемента в нем на 0,003 мг/кг (ПДК по содержанию кадмия в масле составляет 0,03 мг/кг) [Какимов и др., 2013, с. 83–90].

Наибольшее содержание цинка обнаружено в молоке коров с. Науалы Урджарского района (0,7 мг/кг). В процессе переработки молока в сливочное масло содержание цинка в готовом продукте в пересчете на сухое вещество составило 0,84 мг/кг [Какимов и др., 2013, с. 64–71].

Наибольшее содержание свинца обнаружено в молоке коров с. Урджар (0,39 мг/кг), превышая предельно допустимый уровень в 3,9 раза (ПДК 0,1 мг/кг). В процессе переработки молока в сливочное масло содержание свинца в готовом продукте в пересчете на сухое вещество составило 0,429 мг/кг, превышая предельно допустимый уровень содержания исследуемого элемента в нем на 0,129 мг/кг (ПДК по содержанию свинца в масле составляет 0,3 мг/кг) [Какимов и др., 2013, с. 71–83].

Наибольшее содержание меди обнаружено в молоке коров с. Кабанбай Урджарского района (6,3 мг/кг). В процессе переработки молока в сливочное масло содержание меди в готовом продукте в пересчете на сухое вещество составило 6,8 мг/кг.

Анализ результатов исследований показывает, что кадмий и цинк в большем количестве переходят в сливочное масло, чем свинец и медь. В среднем 23% кадмия, 20% цинка, 10% свинца, 8% меди переходят в сливочное масло [Kakimov et al., 2013].

На основании проведенных исследований установлено, что в процессе производства пастеризованного молока содержание солей тяжелых металлов не изменяется.

Изменяется же содержание тяжелых металлов (кадмия, свинца, меди и цинка) в процессе производства обезжиренного творога и сливочного масла. При этом при производстве творога увеличивается в готовом продукте содержание свинца и кадмия, в процессе производства сливочного масла увеличивается содержание, в большем количестве, кадмия и цинка.

При повышенном содержании меди и цинка в молочном сырье рекомендуется перерабатывать молоко в обезжиренный творог.

На следующем этапе исследовано содержание кадмия, свинца, цинка и меди в продуктах переработки семян подсолнечника. Источником тяжелых металлов в растительных маслах являются масличные семена, так как в них содержится незначительное количество различных металлов в зависимости от антропогенной загруженности региона.

Содержание тяжелых металлов в сырых маслах в пересчете на сухое вещество относительно высоко, а соотношение между отдельными металлами приблизительно соответствует их концентрации в исходном сырье.

Так, наиболее приближено содержание цинка и меди к предельно допустимой норме (ПДК для цинка 5 мг/кг, ПДК для меди 0,5 мг/кг) в образцах нерафинированного масла, отобранных из маслобоек с. Науалы и с. Кабанбай. Содержание цинка в образцах нерафинированного масла с. Кабанбай составило 4,1 мг/кг, в с. Науалы — 3,33 мг/кг, содержание же меди в образцах нерафинированного масла с. Науалы составило 0,45 мг/кг, в с. Кабанбай — 0,36 мг/кг [Какимов и др., 2013, с. 64–71].

Соли таких тяжелых металлов, как свинец и кадмий, в меньшей степени обнаружены в нерафинированном масле. Это связано с тем, что свинец и кадмий, образуя комплексные соединения с белками или фосфатидами, способны осаждаться вместе с ними на дно емкости и концентрироваться в составе фуза.

Исследование степени накопления радиоактивных элементов и тяжелых металлов в сырье животного и растительного происхождения является одним из основных этапов изучения влияния явлений техногенеза на качество продуктов питания.

Накопление токсичных элементов в сырье животного и растительного происхождения зависит от уровня их содержания в природных объектах различных территорий в связи с разнообразием климатических и почвенно-геохимических условий, а также характера и степени промышленного освоения.

Библиографический список

Какимов А.К., Жарыкбасова К.С., Какимова Ж.Х., Есимбеков Ж.С., Бепеева А.Е., Молдабаева Ж.К. Радионуклиды и тяжелые металлы в окружающей среде Восточно-Казахстанской области и перспективы производства функциональных продуктов питания. Семей, 2013. 218 с.

Kakimov A.K, Kakimova Zh.H., Yessimbekov Zh., Bepeyeva A.Y., Zharykbasova K.S., Zharykbasov Y.S. Heavy metals distribution in soil, water, vegetation and meat in the regions of East-Kazakhstan// Journal of Environmental Protection. 2013. №11 (4). P. 1292–1295.

УДК 663.18

Ж.Х. Какимова[1], А.К. Какимов[1], А.Е. Бепеева[1], В.В. Хуторянский[2]

[1]Государственный университет им. Шакарима города Семей (Семей, Казахстан)

[2]Рэдингский университет (Рэдинг, Великобритания)

КАПСУЛИРОВАНИЕ ПРОБИОТИКОВ В ГИДРОФИЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРЫ

Приводится анализ использования гидрофильных полимеров для капсулирования пробиотиков, а также изучается влияние этих полимеров на выживаемость клеток. Рассмотрены работы по капсулированию пробиотиков различных авторов.

***Ключевые слова*:** пробиотики, капсулирование, гидрофильные полимеры.

Zh.H. Kakimova[1], A.K. Kakimov[1], A.Y. Bepeyeva[1], V.V. Khutoryanskiy[2]

[1]State University named after Shakarim (Semey, Kazakhstan)

[2]University of Reading (Reading, UK)

ENCAPSULATION PROBIOTICS INTO HYDROPHILIC POLYMERS

The article provides the analysis of the use of hydrophilic polymers for the encapsulation of probiotics, as well as the influence of these polymers on the survival of cells. Works on the probiotics encapsulation process by various authors were reviewed.

***Key words*:** probiotics, encapsulation, hydrophilic polymers.

Одним из выдающихся достижений конца XX в. является разработка принципиально новой концепции «пробиотики и функциональное питание», затрагивающей многие фундаментальные и прикладные аспекты здоровья человека, медицины, нутрициологии и биотехнологии.

Сегодня нет четкого определения понятия пробиотики, однако наиболее применимое, утвержденное в 2001 г. ФАО/ВОЗ, следующее: «Пробиотик — это живые

микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах оказывают благотворное влияние на здоровье человека» [FAO/WHO, 2002].

Также под понятием «пробиотики» понимают такие препараты, как биологически активные добавки к пище и продукты питания, которые при включении в пищевой рацион обеспечивают организм человека не столько энергетическим и пластическим материалом, сколько контролируют и модулируют (оптимизируют) конкретные физиологические функции, биохимические и поведенческие реакции, способствуют подержанию здоровья, снижают риск возникновения заболеваний и ускоряют процесс выздоравливания [Красноперова, 2007].

Как показали исследования последних лет, действие пробиотиков не ограничивается коррекцией микрофлоры, их клиническая эффективность основана также на иммуномодулирующих функциях и участии в обмене веществ. Выявленные точки приложения пробиотиков позволяют расширить показания к их назначению и конструировать препараты с заданными свойствами [Мазанкова и др., 2011, с. 18–23].

Многочисленные исследования показывают, что значительная часть пробиотических клеток теряет свою активность вследствие гибели микроорганизмов при хранении кисломолочных продуктов, а также в процессе прохождения через ЖКТ. Причинами этого являются низкие значения pH в кисломолочных продуктах, влияние соляной кислоты и пепсина желудочного сока [Ананьева и др., 2006, с. 46–47]. Значительную роль в защите пробиотиков играет процесс капсулирования.

Капсулирование — это физико-химический или механический процесс заключения мелких частиц вещества (твердого, жидкого или газообразного) в оболочку из пленкообразующего материала для получения частиц диаметром от нескольких нанометров до нескольких миллиметров [Makinen et al., 2012, p. 356–365].

Изначально капсулирование биологически активных веществ осуществлялось с целью повышения их эффективности, снижения токсичности или для их стабилизации и в основном — в фармацевтической промышленности и производстве пестицидов [Makinen et al., 2012, p. 356–365]. Сегодня капсулирование — это интенсивно разрабатываемая технология, которая нашла широкое применение в различных отраслях промышленности и является хорошим примером использования микротехнологий в науке о пище и биотехнологии [FAO/WHO, 2002]. В пищевой промышленности капсулирование биоактивных компонентов используется для регулирования окислительно-восстановительных реакций, корректировании вкуса, цвета и запаха, увеличении срока годности и т.д. В настоящее время широкое распространение получило капсулирование молочнокислых бактерий, как заквасочных культур, так и пробиотиков, для защиты их в желудочно-кишечном тракте от кислых значений pH, что позволяет увеличивать получение новых технологий функциональных продуктов питания [Красноперова, 2007].

К технологии капсулирования проявляют все больший интерес в области биотехнологии, поскольку, помимо увеличения выживаемости пробиотических культур в молочных продуктах и в условиях ЖКТ, она способствует защите клеток от бактериофагов, повышению их выживаемости в процессе сушки и замораживания, стабильности показателей качества и увеличению срока годности продуктов. Кроме того, капсулированные культуры обеспечивают большую стабильность клеток и высокое продуцирование метаболитов с высокой скоростью агитации.

Для капсулирования применяют многочисленные материалы, такие как альгинат, геллановая смола, хитозан и т.д.

Альгинатные гидрогели широко используются в капсулировании клеток и альгинат кальция предпочтительнее для капсулирования пробиотиков в виду его простоты использования, не токсичности, биосовместимости и низкой стоимости [Cook et al., 2011, p. 2834–2840].

Использование покрывающих микрокапсул материалов при капсулировании в альгинат — это популярное направление исследований в области капсулирования пробиотиков. Наряду с дополнительной защитой клеток, такие покрытия могут обладать другими полезными свойствами, например, контроль над высвобождением клеток пробиотиков. Самым популярным материалом для покрытия является полисахарид хитозан. В исследовании [Sawaminee Nualkaekul et al., 2012, p. 1281–1287] было показано, что многослойное покрытие капсул хитозаном повышает защитные свойства и может применяться для повышения выживаемости пробиотических клеток в очень кислых пищевых системах, таких как гранатовый сок.

Гелановая смола — полисахарид, полученный микробиологическим путем из Pseudomonas elodea, состоящий из повторяющихся мономеров глюкозы, глюкороновой кислоты, глюкозы и рамнозы. При охлаждении гелановой смолы можно вызвать термообратимое гелеобразование, при этом температура гелеобразования будет зависеть от концентрации полимера, ионной силы и типа противоионов. Хотя гелановая смола способна образовывать капсулы, она не используется для микроинкапсулирования, так как недостатком является высокая температура гелеобразования (80–90 °C в течение примерно 1 ч), что приводит к тепловой травме пробиотических клеток [Vivek et al., 2013, p. 188–199].

Из-за снижения устойчивости альгината к кислой среде многие исследователи для микроинкапсулирования пробиотиков, таких как B. infantis и B. lactis, применяли смесь ксантановой и гелановой смол с использованием химических методов [Paquin et al., 1990; Sanderson, 1990; Sultana et al., 2000; Sun and Griffi ths, 2000] с оптимальным соотношением ксантана к геллану 1 : 0,75 [Sun and Griffi ths, 2000]. Для гелеобразования данной смеси использовали ионы кальция [Klein и Vorlop, 1985; Sanderson, 1990]. Аналогичные результаты были получены в исследованиях McMaster et al. (2005) [Krasaekoopt, 2012].

Тем не менее в некоторых работах сообщалось об ингибирующем действии хлористого калия на некоторые молочнокислые бактерии, такие как Streptococcus salivarius ssp. thermophilus и L. delbrueckii ssp. Bulgaricus. Эта проблема может быть решена сочетанием к-каррагинана и компонента акции в соотношении 1 : 2, обеспечивая высокую прочность геля. Данная смесь повышает устойчивость этих пробиотиков из-за меньшего влияния молочной кислоты, получаемой при брожении.

Также эта смесь была использована для инкапсуляции пробиотиков, таких как бифидобактерии. Однако для гелеобразования этой смеси необходимы ионы кальция, которые могут повлиять на жизнеспособность некоторых пробиотиков, таких как бифидобактерии [Krasaekoopt, 2012].

Целлюлозы ацетат фталат (CAP), или целлацефат, широко используемый полимер в фармацевтике. Это полимер целлюлозы, где около половины гидроксильных групп этерифицированы с ацетилом, четверть этерифицирована с одним или двумя карбоксильными группами из ортофталевой кислоты, а оставшиеся неизменны. Использование этого соединения для образования капсул при микрокапсулировании зависит от его растворимости в растворителе полимера или в жидкости для отвердевания, особенно в присутствии углеводов, таких как крахмал. Также CAP может быть использован в качестве вспомогательного материала при распылительной сушке.

Целлюлоза ацетат фталат устойчив к кислым значениям pH желудочного сока и, наоборот, легко растворяется в среде при pH > 6 в связи с отрицательным зарядом. Успешно микроинкапсулировали B. pseudolongum в целлюлозу ацетат фталат с помощью метода эмульсии. Данный метод продемонстрировал высокую жизнеспособность микроорганизма после прохождения через желудочно-кишечный тракт (10^9 КОЕ $мл^{-1}$).

Таким образом, использование гидрофильных полимеров для капсулирования пробиотиков является перспективным и способствует высокой жизнеспособности клеток под воздействием агрессивных условий желудочно-кишечного тракта.

Библиографический список

Красноперова Е.Ф. Разработка технологии кисломолочного продукта с синбиотическими свойствами : дис. … канд. техн. наук. Павлодар, 2007. 207 с.

Мазанкова Л.Н., Лыкова Е.А. Пробиотики: Характеристика препаратов и выбор в педиатрической практике// Детские инфекции. 2011. №1. С. 18–23.

FAO/WHO, 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, Ontario, Canada.

Krasaekoopt W., Bhandari B. Properties and applications of different probiotic delivery systems//Woodhead Publishing Limited, 2012.

Makinen K., Berger B., Bel-Rhlid R., Ananta E. Science and technology for the mastership of probiotic applications in food products// Journal of Biotechnology. 2012. P. 356–365.

Cook M.T., Tzortzis G., Charalampopoulos D., Khutoryanskiy V.V. Production and evaluation of dry alginate-chitosan microcapsules as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria //Biomacromolecules. 2011. P. 2834–2840.

Sawaminee Nualkaekul, Dominique Lenton, Michael T. Cook, Vitaliy V. Khutoryanskiy, Dimitris Charalampopoulos. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated Lactobacillus plantarum in pomegranate juice// Carbohydrate Polymers. 2012. P. 1281–1287.

Vivek K.B. Use of encapsulated probiotics in dairy based foods // International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences. 2013. P. 188–199.

УДК 547:54-732:630*8:661.728:662.63:665

И.Б. Катраков, В.И. Маркин, Н.Г. Базарнова, Д.О. Поляков

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ ПЛИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ИЗ ДРЕВЕСИНЫ СОСНЫ С РАЗЛИЧНЫМИ СВЯЗУЮЩИМИ

Изучены физико-механические свойства плитных материалов полученных из древесины сосны в условиях горячего прессования с использованием в качестве связующих фталевой кислоты, фталевого ангидрида, малеиновой кислоты, малеинового ангидрида, этиленгликоля и бутандиола-1,4. Показано, что в результате прессования пресс-масс получены плитные материалы с прочностью на изгиб 11–25,1 МПа и водоразбуханием за 24 ч — 8–18%.

Ключевые слова: древесина, плитные материалы, связующие, прочность на изгиб, водоразбухание.

I.B. Katrakov, V.I. Markin, N.G. Bazarnova, D.O. Polalov

Altai State University (Barnaul, Russia)

BIODEGRADABLE PLATE MATERIALS FROM PINE WOOD WITH VARIOUS US

Physico-mechanical properties of plate materials obtained from pine in a hot press using as binders phthalic acid, phthalic anhydride, maleic acid, maleic anhydride, ethylene glycol and 1,4-butanediol. It is shown that as a result of pressing the press mass obtained board materials with a flexural strength 11–25,1 MPa and water swelling 24h — 8–18%.

***Key words*:** wood, board materials, binders, flexural strength, water swelling.

В настоящее время различные плитные материалы получили широкое распространение в различных областях жизнедеятельности человека. Поэтому является актуальной задача получения безопасных экологически чистых, биоразлагаемых плитных материалов. Недостаток используемых в России технологий производства древесно-стружечных (ДСтП) и древесноволокнистых плит (ДВП) заключается в том, что при использовании традиционных для производства связующих — карбамидоформальдегидных и фенолоформальдегидных смол, выделяется формальдегид — вещество, являющееся токсичным для человека. Необходимо также отметить, что изделия из ДВП и ДСтП недолговечны, непрочны и с течением времени выводятся из эксплуатации и должны разлагаться в природе с выделением в атмосферу минимального количества токсичных веществ. В связи с этим возникает задача получения биоразлагаемых плитных материалов с использованием связующих, которые не смогут нанести экологический ущерб окружающей среде.

На кафедре органической химии реализуются научные исследования по химическому модифицированию растительного сырья без предварительного разделения на отдельные компоненты с получением полимерных композиций различного назначения [Базарнова и др., 2011]. Одним из направлений, в рамках которого проводятся интенсивные исследования, является получение экологически чистых биоразлагаемых плитных материалов. Ранее была показана возможность получения плитных материалов на основе кавитированной древесины с различными добавками, которые обладают высокими эксплуатационными характеристиками [Катраков, 2008; Катраков, 2014].

Цель настоящей работы — изучение физико-химических свойств плитных материалов из древесины сосны с использованием различных связующих.

Плитные материалы получали в несколько стадий: подготовка древесного сырья, сушка измельченной массы, нанесение на нее связующего, формование ковра из древесной массы, горячее прессование плит и их послепрессовая обработка. Горячее прессование проводили при температуре 160 °С в течение 5 мин при давлении 10 МПа.

В качестве связующих использовали такие соединения, как фталевая кислота, фталевый ангидрид, малеиновая кислота, малеиновый ангидрид, этиленгликоль и бутандиол-1,4. Физико-механические свойства полученных плитных материалов представлены в таблице. Плотность у полученных плиток выше, чем требования евростандарта EN-622-2, и имеют значения в пределах 1149–1489 кг/м^3, что позволяет отнести их к плитам средней плотности (MDF).

Самые высокие показатели на прочность имеют плитки, где в качестве связующего были использованы фталевый ангидрид 10% и этиленгликоль 10%. Прочность на изгиб данных образцов составила 25,1 МПа.

В случае с использованием в качестве связующего фталевого ангидрида, малеинового ангидрида, бутандиола-1,4 и этиленгликоля, при увеличении концентрации связующего в 2 раза ведет к увеличению прочности на изгиб. Однако при увеличении концентрации фталевой кислоты в качестве связующего в 2 раза прочность плитных материалов уменьшилась с 23,0 до 14,8 МПа. В случае с малеиновой кислотой концентрация связующего не оказывает особого влияния на прочность на изгиб.

В таблице прочерками отмечены плитки, которые не прошли испытания на водопоглощение и водоразбухание. Наилучший показатель у плитки со связующим — фталевой кислотой, он равен 10 и 8% соответственно. Как видно по данным, при повышении концентрации связующих — фталевая кислота, этиленгликоль, 1,4-бутандиол и малеиновый ангидрид привели к улучшению водопоглощения и водоразбухания за 24 ч.

Физико-механические свойства плитных материалов на основе древесины сосны с однокомпонентным связующим

№	Состав связующего	Концентрация связующего, %	Прочность, МПа	Плотность, кг/м³	Водопоглощение (24 ч), %	Водоразбухание (24 ч), %	Влажность, %
*EN-622-2**			*23,0*	*800–850*	*не нормируется*	*45*	*не нормируется*
1	Фталевый ангидрид	5	11,0	1149	–	–	3
2	Фталевый ангидрид	10	25,1	1405	–	–	3
3	Фталевая кислота	5	23,0	1336	–	–	3
4	Фталевая кислота	10	14,8	1453	10	8	6
5	Этиленгликоль	5	12,4	1158	–	–	4
6	Этиленгликоль	10	25,1	1422	42	61	7
7	1,4-бутандиол	5	15,2	1429	87	74	5
8	1,4-бутандиол	10	23,2	1399	54	59	7
9	Малеиновая кислота	5	12,4	1442	23	18	4
10	Малеиновая кислота	10	12,5	1463	13	16	8
11	Малеиновый ангидрид	5	12,5	1212	–	–	5
12	Малеиновый ангидрид	10	17,8	1489	21	18	3

Примечание: * — евростандарт ДВП мокрого способа получения, для MDF общего назначения [Катраков, 2012]; «–» — образец разрушился.

При взаимодействии связующих с древесиной сосны гидроксильные группы целлюлозы, лигнина, гемицеллюлоз взаимодействуют с карбоксильными группами кислот, ангидридными группами ангидридов и гидроксильными группами гликолей с образованием сложноэфирных и простых эфирных связей. При этом процесс эфирообразования может протекать как по одной функциональной группе связующего, так и по двум. Наличие подобных группировок может способствовать более быстрому разложению данных плитных материалов в окружающей среде без нанесения ей ущерба.

Таким образом, в результате прессования пресс-масс при давлении 10 МПа и температуре 165 ± 5 °С на основе древесины сосны с использованием в качестве связующих малеиновой и фталевой кислот, их ангидридов, этиленгликоля, бутандиола-1,4 получены плитные материалы с прочностью на изгиб 11–25,1 МПа и водоразбуханием за 24 ч — 8–18%.

Библиографический список

Базарнова Н.Г., Маркин В.И., Колосов П.В., Катраков И.Б., Калюта Е.В., Чепрасова М.Ю. Методы получения лигноуглеводных композиций из химически модифицированного растительного сырья // Российский химический журнал. 2011. Т. LV. №1. С. 4–9.

Патент 2381244 (RU) Пресс-масса, способ ее получения и способ получения плитных материалов на ее основе / И.Б. Катраков, Н.Г. Базарнова, В.И. Маркин. 09.01.2008.

Катраков И.Б. Древесные композиционные материалы без синтетических связующих : монография. Барнаул, 2012. 164 с.

Катраков И.Б., Маркин В.И., Базарнова Н.Г. Получение пресс-масс и плитных материалов на основе кавитированного растительного сырья // Известия Алт. гос. ун-та. 2014. №3-1 (83). С. 204–208.

УДК 639.211.597.1.05

Н.Н. Ковалев, Р.В. Есипенко, Д.В. Порваткин

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет — Дальрыбвтуз (Владивосток, Россия)

ОБОСНОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО БАССЕЙНА

Меренария Стимсона — двустворчатый моллюск, использование которого в пищу затруднено из-за малого количества съедобных тканей. Предложен биотехнологический подход к использованию этого вида моллюска. Проведено определение основных параметров ферментолиза пучка мягких тканей мерценарии Стимпсона под действием протеолитических ферментов. Установлено, что оптимальное время ферментолиза под действием препаратов протамекса и мегатерина составляет 2,5–3 часа при активности ферментов 2,5–3 ПЕ. Использование молочной сыворотки для обогащения конечного продукта белковыми компонентами оказывает тормозящее действие на протамекс.

Ключевые слова: мерценария, протамекс, мегатерин, ферментолиз, молочная сыворотка.

N.N. Kovalev, R.V. Esipenko, D.V. Porvatkin

Far Eastern State Technical Fisheries University — Dalrybvtuz (Vladivostok, Russia)

BASIS OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS OF PROCESSING OF BIVALVE MOLLUSKS IN COASTALS OF FAR EASTERN BASIN

Mercenaria Stimsoni — bivalve mollusk with small amount of edible tissue. There was proposed biotechnological approach to using of this species of mollusks. There was determined the main parameters of the enzymatic hydrolysis of soft tissues beam of *Mercenaria Stimpsoni* under the action of proteolytic enzymes. It was established that the optimal time of enzymatic hydrolysis under the action of preparations named protamex and megaterin is 2,5–3 hours at the activity of enzymes 2,5–3,0 U/g. Using of whey for the enrichment the final product of proteins compounds had an inhibitory effect on enzymes of protomex.

Key words: mercenaria, protamex, megaterin, enzymatic hydrolysis, whey.

Мерценария Стимпсона — *Mercenaria stimpsoni* (Gould, 1861) — вид, распространенный в Японском и южной части Охотского моря. Обитает на песчано-алевритовых и песчаных отложениях с глубинами от 4–5 до 18–22 м при летней температуре придонной воды от 14–16 до 18–22 °С, на глубинах да 45 м. В исследованных районах прибрежья Приморья наибольшие ресурсы мерценарии составляют 5,3 тыс. тонн. Мерценария Стимпсона наряду с 11 видами других двустворчатых моллюсков входит в группу малоизученных потенциально промысловых прибрежных объектов. В литературе имеются отрывочные данные о наличии в тканях мерценарии индивидуальных биологически активных веществ (БАВ) и попытках их выделения [Cottrell et al., 1968, p. 280]. Ткани мерценарии Стимпсона богаты таурином [Аюшин, 2001, с. 133], который стимулирует выделение инсулина поджелудочной железой, повышает светочувствительность сетчатки глаза, препятствует образованию холестерина в крови, оказывает противолучевое действие [Пивненко и др., 1997, с. 26]. Учитывая значительную массу отходов от разделки мерценарии

(раковины 61,9–68,2%; внутренности 3,–5,7% от массы сырья), необходимо продолжить исследования в области рационального ее использования.

Основываясь на ранее полученных данных о безопасности пищевого использования мерценарии и концентрациях в ее тканях физиологически значимых и биологически активных компонентов, можно рекомендовать мерценарию для производства низкокалорийных пищевых продуктов и биологически активных добавок (БАД) [Ковалев и др., 2013, табл. 4–8, с. 133–135].

Препятствием для широкого использования мерценарии является низкий выход съедобных тканей. Одним из приемов переработки пучка мягких тканей двустворчатых моллюсков является их ферментолиз. Повышению выхода свободных аминокислот в ферментолизат способствует использование молочной сыворотки.

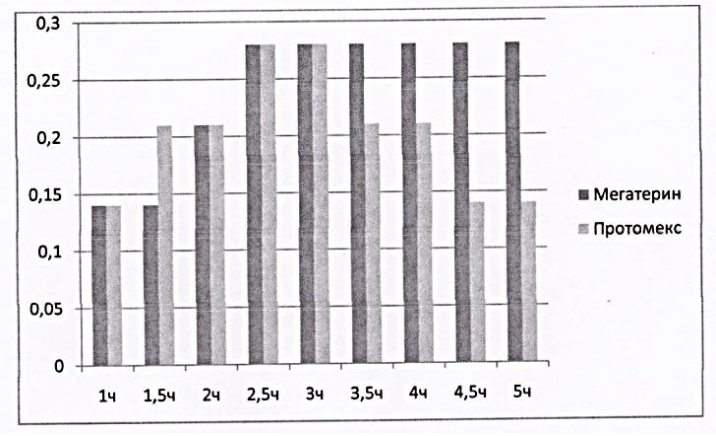
Основными параметрами, влияющими на процесс ферментолиза, являются: качество и активность используемых ферментных препаратов, их концентрация, pH среды, температура, гидромодуль.

Выбор ферментных препаратов обоснован их доступностью и эффективностью, кроме того, необходимо было определить, какие ферментные препараты подходят для гидролиза используемого белоксодержащего сырья — мягких тканей мерценарии Стимпсона.

Для проведения гидролиза были использованы ферментные препараты микробиального происхождения — мегатерин и протамекс, содержащие протеиназы широкого спектра действия. Эффективность ферментолиза оценивалась по накоплению аминного азота.

Оптимальное время гидролиза, в случае как протамекса, так и мегатерина, составляло 2,5–3 ч. Следует отметить, что в случае протамекса дальнейшая скорость гидролиза субстрата снижалась. В то же время процесс ферментолиза под действием мегатерина проходил при постоянной скорости вплоть до 5 ч гидролиза.

Нами был проведен подбор рациональных концентраций ферментных препаратов для проведения ферментолиза применительно к мягким тканям мерценарии Стимпсона. Наибольшая степень гидролиза, определенная по накоплению аминного азота, была достигнута при концентрации ферментов в 2,5 протеолитических единицы (ПЕ) на 1 г сырья для протамекса и 3 ПЕ на 1 г сырья для мегатерина (рис.).



Зависимость скорости гидролиза мягких тканей мерценарии от времени гидролиза под действием протеолитических ферментов

При подборе pH среды для проведения ферментативного гидролиза мягких тканей мерценарии установлено, что наиболее эффективно гидролиз белков проходит при pH 8,0.

Соотношение сырья и воды в реакционной смеси должно удовлетворять двум условиям: максимальному выходу конечного продукта и доступности субстрата для фермента. В результате проведенных экспериментов установлено, что гидролиз наиболее эффективен при гидромодуле «сырье : вода» — 1 : 0,5 (табл. 1) при использовании обоих ферментных препаратов.

Таблица 1

Влияние гидромодуля на степень гидролиза мягких тканей мерценарии

Фермент, 17 мг на 1 г сырья	Гидромодуль	Содержание аминного азота, мг
Протамекс	1: 0,5	0,42
	1 : 1	0,28
	1 : 2	0,21
Мегатерин	1 : 0,5	0,21
	1 : 1	0,14
	1 : 2	0,14

Таким образом, в процессе исследования установлены следующие рациональные параметры ферментативного гидролиза мягких тканей мерценарии: ферментные препараты — протамекс с удельной активностью 365 ед./г в количестве 1,8 ПЕ на 1 г сырья и мегатерин с удельной активностью 170 Е/г в количестве 0,85–1,02 ПЕ на 1 г сырья; соотношение сырье : вода (1 : 0,5), время 2,5–3 ч, температура — 37 °С. Инактивацию фермента проводили путем нагревания до 80 °С в течение 20 мин.

Одним из предложенных способов обогащения белкового и аминокислотного состава продуктов было внесение молочной сыворотки. Была проведена серия экспериментов по оценке влияния молочной сыворотки на процесс ферментолиза пучка мягких тканей мерценарии. Ферментолиз проводили при рациональных концентрациях ферментов, времени ферментолиза (3 ч), соотношение водного гомогената тканей моллюска и молочной сыворотки составляло 1 : 1 (табл. 2).

Проведенные исследования показали, что при использовании протамекса в среде, содержащей молочную сыворотку, не происходило дополнительного накопления аминокислот в ферментолизате. В тех же условиях совместный гидролиз гомогената ткани с молочной сывороткой при использовании мегатерина способствовал двукратному увеличению показателя аминного азота.

Таблица 2

Влияние молочной сыворотки на ферментолиз тканей мерценарии

Образец	Фермент	Аминный азот, мг/мг
Гомогенат ткани	Протомекс	0,14
Гомогенат ткани + молочная сыворотка		0,14
Гомогенат ткани	Мегатерин	0,07
Гомогенат ткани + молочная сыворотка		0,14

Несмотря на равную эффективность процесса биоконверсии под действием различных ферментов кинетика процесса значительно различается, что свидетельствует о разной субстратной специфичности исследуемых ферментов.

Таким образом, на основании проведенного исследования определены рациональные условия переработки пучка мягких тканей мерценарии по действием протамекса и мегатерина для создания новых видов пищевых продуктов, обогащенных

БАВ. При разработке технологии комбинированных продуктов на основе мерценарии и молочной сыворотки наиболее эффективно биоконверсия сырья происходит под действием ферментного препарата мегатерин.

Библиографический список

Аюшин Н.Б. Таурин: Фармацевтические свойства и перспективы получения из морских организмов // Известия ТИНРО. 2001. Т. 129. С. 129–145.

Ковалев Н.Н., Купина Н.М., Есипенко Р.В. Исследование химического состава, пищевой ценности и безопасности мерценарии Стимпсона // Рыбное хозяйство. 2013. №4. С. 132–136.

Пивненко Т.Н., Эпштейн Л.М., Давидович В.В., Позднякова Ю.М. Получение и характеристика белковых гидролизатов из гидробионтов // Известия ТИНРО. 1997. Т. 120. С. 23–31.

Cottrell G., Laverack M.S. Invertebrale pharmacology// Ann. Rev. Pharmacol. 1968. V. 8. P. 273–298.

УДК 664.68

Л.А. Козубаева, Е.А. Тузовская

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

НИЗКОБЕЛКОВОЕ ПЕЧЕНЬЕ ДЛЯ БОЛЬНЫХ ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ

Исследована возможность производства сахарного печенья из крахмала и другого сырья, не содержащего белок или с низким его содержанием. Низкобелковое печенье предназначено для детей, больных фенилкетонурией. Изучено влияние частичной замены сахара патокой на качество низкобелкового печенья и выявлено, что лучшее качество имеет печенье с добавлением 4,5% патоки.

Ключевые слова: фенилкетонурия, аминокислота фенилаланин, сахарное печенье, рецептура, низкобелковая диета.

L.A. Kozubaeva, E.A. Tuzovskaya

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

LOW-PROTEIN BISCUITSFOR PATIENTS WITH PHENYLKETONURIA

The work investigated the possibility of producing sugar cookies from starch and other raw materials, containing no protein or with its low content. Low-protein biscuits intended for children, patients with phenylketonuria. The influence of partial replacement of sugar syrup on the quality of low-protein biscuits and identified that has the best quality biscuits with the addition of 4.5% molasses.

Key words: PKU, the amino acid phenylalanine, sugar cookies, recipe, low protein diet.

Во всем мире признана взаимосвязь между характером питания и здоровьем. Безопасность и полезность для здоровья — главные параметры, определяющие потребительские свойства пищевых продуктов.

Редкое заболевание *фенилкетонурия* — одна из форм наследственных дефектов обмена аминокислот, из-за которого аминокислота фенилаланин, поступающая в организм с пищевым белком, не может превращаться в тирозин, как это бывает в норме. В результате фенилаланин и его производные с самого рождения накапливаются в тканях и органах малыша, оказывая токсическое воздействие на нервную систему и являясь причиной умственной отсталости у детей [Большая медицинская энциклопедия, 1985, с. 252–253; Скворцов, 2003, с. 117].

Таким детям необходима низкобелковая диета. Диета, с одной стороны, должна содержать мало фенилаланина, но, с другой стороны, быть сбалансированной

для обеспечения роста и развития малыша [Голихина, 2004, с. 24]. Полное исключение фенилаланина может привести к отрицательным последствиям, так как эта аминокислота является незаменимой.

Таким образом, лечение заключается в резком ограничении поступающего с пищей белка и соответственно, фенилаланина. Чем старше ребенок, тем меньше должно быть количество потребляемого фенилаланина на 1 кг массы тела. Количество последнего не должно превышать 15–40 мг/кг.

На кафедре технологии хранения и переработки зерна разрабатываются рецептуры печенья для больных фенилкетонурией. Традиционное сырье для производства мучных кондитерских изделий (пшеничная мука, яйца, молоко) содержит достаточно большое количество белка и, следовательно, не может в полной мере использоваться при производстве низкобелкового печенья.

Печенье выпекали по рецептуре, представленной в таблице 1.

Таблица 1

Рецептура низкобелкового печенья

Сырье и полуфабрикаты	Массовая доля сухих веществ, %	Расход сырья, кг, на одну тонну готовой продукции	
		в натуре	в сухих веществах
Крахмал картофельный	80,00	571,41	457,13
Сахар-песок	99,85	318,62	318,14
Маргарин	84,00	248,83	209,02
Натрий двууглекислый	99,00	0,48	0,48
ИТОГО	-	1139,34	984,77
Потери 1,5%	-	-	14,77
ВЫХОД	97,00	1000,00	970,00

Как видно из рецептуры, за основу сырья был взят картофельный крахмал, поэтому тесто имело необычную консистенцию, отличную от теста, приготовленного из пшеничной муки. Тесто было плохо связанным, формование было затруднено.

Показатели качества печенья приведены в таблице 2. Полученное нами печенье было недостаточно высокого качества, несмотря на то, что цвет, запах и вкус печенья были свойственными, печенье было пропеченным. Однако следует отметить, что печенье было избыточно сладким, по структуре оно было твердым, плохо разламывалось. Намокаемость печенья была ниже нормы и составила 111% (для сахарного печенья не менее 150%). Поэтому далее в работе сахар-песок заменяли сахарной пудрой, содержание сахара в тесте уменьшали.

Готовили следующие пробы:

1 — с добавлением сахарной пудры в количестве 35% к массе крахмала;

2 — с добавлением сахарной пудры в количестве 40% к массе крахмала;

3 — с добавлением сахарной пудры в количестве 45% к массе крахмала;

4 — с добавлением сахарной пудры в количестве 50% к массе крахмала.

Показатели качества печенья представлены в таблице 3. Из данных таблицы видно, что влажность печенья довольно низкая и составила 1,0–2,0%, щелочность печенья была также низкая (0,3 град). Намокаемость печенья при увеличении содержания сахара снижалась и у четвертой пробы составила 124%. Вероятно, увеличение содержания сахара в тесте приводило к меньшему разрыхлению печенья. Оно становилось более твердым.

Таблица 2

Показатели качества печенья

Наименование показателя	Характеристика печенья
Органолептические показатели	
Форма	Правильная без вмятин, края печенья ровные
Поверхность	Гладкая, без вкраплений крошек
Цвет	Бело-желтого оттенка, равномерный
Вкус и запах	Свойственный, без постороннего запаха и вкуса
Вид в изломе	Пропеченное печенье с равномерной пористостью, без пустот и следов непромеса
Физико-химические показатели	
Влажность, %	3,0
Щелочность, град.	0,20
Намокаемость, %	111
Массовая доля общего сахара в пересчете на сухое вещество, %	32,47
Массовая доля жира в пересчете на сухое вещество, %	15,16

Таблица 3

Качество печенья

Наименование показателя	Качество печенья			
	Проба			
	1	2	3	4
Влажность, %	2,0	2,0	1,0	2,0
Щелочность, град.	0,30	0,30	0,30	0,30
Намокаемость, %	166	159	155	124
Массовая доля общего сахара в пересчете на сухое вещество, %	22,27	25,05	27,89	30,03
Массовая доля жира в пересчете на сухое вещество, %	17,69	17,69	17,69	17,69

Самое высокое качество имело печенье первой пробы, оно было правильной формы, не расплывчатое, с равномерной пористостью. Поэтому в дальнейшей работе использовали именно такую дозировку сахара — 35%.

Следует отметить, что тесто для приготовления низкобелкового печенья было слабо связанным, поэтому заготовки формовались сложно. В связи с этим далее в работе в тесто для печенья добавляли патоку, которая является одним из основных видов сырья в кондитерской промышленности. Ее применяют как антикристаллизатор.

Патоку вносили в количестве 4,0; 4,5 и 5,0% к массе крахмала. При замесе тесто, приготовленное с патокой, представляло собой связную, пластичную массу, поэтому формовать его было удобно и легко.

Выпеченное печенье всех проб имело правильную форму, гладкую поверхность, было равномерного цвета; запах и вкус, свойственные печенью. Низкобелковое печенье с патокой получилось пропеченное, с равномерной пористостью.

Физико-химические показатели качества печенья с патокой приведены в таблице 4. Самая высокая намокаемость была у печенья, в рецептуре которого содержание патоки составило 4,5%. Массовая доля сахара уменьшалась с добавлением патоки.

Таблица 4

Показатели качества печенья с патокой

Наименование показателя	Качество печенья			
	Содержание патоки в тесте, %			
	0 (контроль)	4,0	4,5	5,0
Влажность, %	7,0	6,0	7,0	8,0
Щелочность, град.	0,20	0,20	0,20	0,20
Намокаемость, %	143	137	150	132
Массовая доля общего сахара в пересчете на сухое вещество, %	22,27	21,14	20,99	20,86
Массовая доля жира в пересчете на сухое вещество, %	17,69	17,69	17,69	17,69

Таким образом, рекомендуемая дозировка патоки составила 4,5% к массе крахмала. Проведенные исследования показали возможность приготовления низкобелкового печенья с хорошими органолептическими и физико-химическими показателями качества на основе крахмала с добавлением патоки.

Библиографический список

Большая медицинская энциклопедия : в 30 т. / гл. ред. Б.В. Петровский. 3-е изд. Т. 26 : Углекислые воды — хлор. М., 1985. 560 с.

Голихина Т.А. Фенилкетонурия у детей в Краснодарском крае (клинико-эпидемиологическое исследование) : автореф. дис. … канд. мед. наук. Краснодар, 2004. 24 с.

Скворцов И.А., Ермоленко Н.А. Развитие нервной системы у детей в норме и патологии. М., 2003. 368 с.

УДК 663.4

В.П. Коцюба, А.Ю. Никитин, А.В. Коцюба

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

О ВЛИЯНИИ КАРБОНИЗАЦИИ ПИВА НА КОНТРОЛЬ ОБЪЕМОВ ПРОИЗВОДСТВА

Изучены параметры пива, влияющие на его электропроводность. Рассмотрен принцип действия электромагнитных расходомеров и указаны их основные недостатки, в том числе чувствительность к наличию пузырьков газа в протекающей жидкости. Представлена схема экспериментальной установки для исследования влияния степени насыщения пива углекислотой на его электропроводность. Получены предварительные результаты.

Ключевые слова: пиво, карбонизация, производство, контроль, расходомер, электропроводность.

V.P. Kotsyuba, A.Y. Nikitin, A.V. Kotsyuba

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

THE INFLUENCE OF BEER CARBONIZATION ON OVERALL PRODUCTION CONTROL

The article is devoted to the beer parameters, which influence on its conductivity. In the article the way of proceeding of an electromagnetic flowmeter is viewed, its common disadvantages, e.g. its sensitivity to the presence of gas bubbles in the flowing liquid, are defined. The scheme of an experimental facility for the research of carbonation level of beer on its conductivity is introduced. The article contains some preliminary results.

Key words: beer, carbonization, production, control, flowmeter, conductivity.

Приравняв пиво и пивные напитки к алкогольной продукции, Государственной Думой РФ было решено усилить контроль за объемом производства с 1 июля 2013 г. Поэтому объемы производства пива стали актуальными и для государства, и для предприятия.

Производство пива — сложный процесс, состоящий из нескольких этапов: производство солода, производство сусла, брожение пивного сусла, созревание, фильтрование и розлив пива. При производстве солода происходят многообразные биохимические превращения, благодаря чему ферменты солода переходят в активное состояние, а в дальнейшем в состав пивного сусла. Для превращения сусла в пиво сахар, содержащийся в сусле, должен быть сброжен в этиловый спирт и углекислоту. При этом особую роль играет то, что во время брожения в процессе метаболизма дрожжей возникают побочные продукты, которые наряду с частичками хмеля находятся в молодом пиве. В фазе созревания пива, кроме дображивания, происходит еще два процесса — это насыщение пива диоксидом углерода и осветление пива. В процессе фильтрации из пива удаляются дрожжевые клетки и другие взвешенные частички [Кунце, Мит, 2009]. Таким образом, основными составными частями пива, кроме воды, являются:

- действительный экстракт пива (до 13% масс.);
- объемная доля спирта (до 9% об.);
- содержание двуокиси углерода (до 1% мас.).

Этот факт следует учитывать при контроле объемов готового пива.

Объем производства пива на российских пивоваренных заводах измеряется с помощью электромагнитных расходомеров, принцип действия которых основан на измерении электродвижущей силы (ЭДС), индуктируемой в жидкости, при пересечении ею магнитного поля. Внутри электромагнитного расходомера противоположно расположены два электрода в направлении, перпендикулярном как к направлению движения жидкости, так и к направлению силовых линий магнитного поля. Разность потенциалов E на электродах определяется уравнением

$$E = BDv,$$

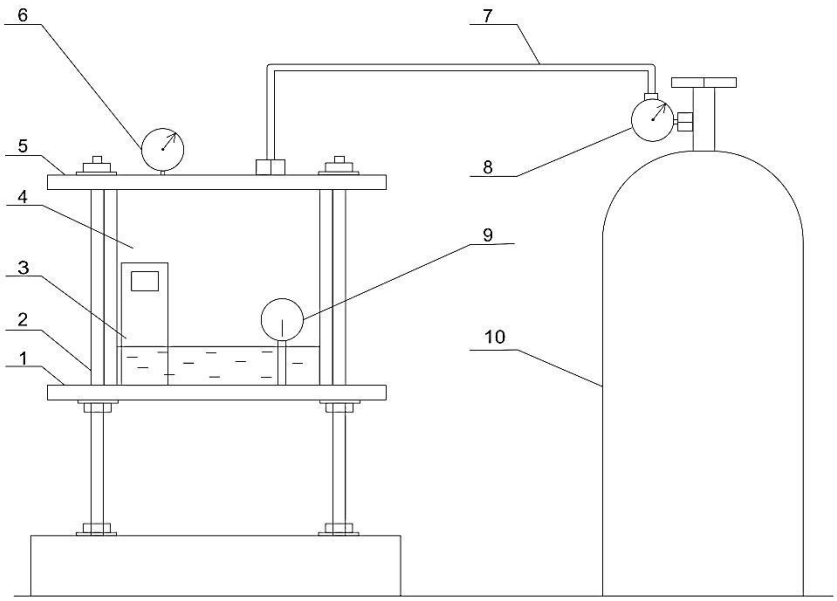
$$E = 4B\Pi_v/\pi D,$$

где B — магнитная индукция; D — расстояние между концами электродов, равное внутреннему диаметру расходомера; v и Π_v — средняя скорость и объемный расход жидкости.

Таким образом, измеряемая разность потенциалов E прямо пропорциональна объемному расходу жидкости Π_v [Кремлевский, 1989].

Электромагнитные расходомеры получили широкое распространение, так как они имеют целый ряд неоспоримых преимуществ. Вместе с тем они пригодны только для жидкостей с удельной электропроводимостью не менее 10^{-3} См/м [Кремлевский, 1989]. Кроме того, они чувствительны к неоднородности потока жидкости в трубе (неравномерность поля скоростей, наличие свободной поверхности, наличие пузырьков газа). Первые два недостатка можно устранить при монтаже. А вот влияние пузырьков углекислого газа в пиве на его электропроводность изучено недостаточно.

На кафедре «Технология бродильных производств и виноделия» для исследования влияния степени насыщения пива углекислотой на его электропроводность создана экспериментальная установка, представленная на рисунке.



Экспериментальная установка для исследования влияния степени насыщения пива углекислотой на его электропроводность:
1 — нижняя стягивающая пластина, 2 — стягивающая шпилька, 3 — кондуктометр, 4 — стеклянная труба, 5- верхняя стягивающая пластина, 6 — манометр, 7 — соединительный шланг, 8 — редуктор, 9 — термометр, 10 — баллон с углекислотой

Предварительными исследованиями было выявлено, что электропроводность пива увеличивается при его насыщении углекислотой. Исследования влияния параметров пива на контроль объемов производства электромагнитными расходомерами будут продолжены с расширением диапазона содержания двуокиси углерода.

Библиографический список

Кремлевский П.П. Расходомеры и счетчики количества : справочник. 4-е изд., перераб. и доп. Л., 1989. 701 с.

Кунце В., Мит Г. Технология солода и пива. 3-е изд., перераб. и доп. : пер. с нем. СПб., 2009. 1064 с.

УДК 614.7:633

Е.А. Кузнецова, В.Ю. Зомитев, Е.А. Кузнецова, Е.Г. Шуваева

Государственный университет — учебно-научно-производственный комплекс (Орел, Россия)

ПРИМЕНЕНИЕ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛАЗ И ФИТАЗЫ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ЗЕРНЕ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР

Тяжелые металлы локализованы в периферических частях зерна вместе с соединениями, обеспечивающими пищевую ценность продуктов питания. Был использован прием модификации некрахмальных полисахаридов и фитина для снижения содержания тяжелых металлов. Изучали процесс миграции тяжелых металлов под действием комплексного ферментного препарата на основе целлюлаз и фитазы (продуцент Penicillium canescens). Приведены результаты микроструктурных исследований и определения содержания тяжелых металлов методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии.

Ключевые слова: зерно, пшеница, тяжелые металлы, ферменты, модификация, полисахариды, фитин, микроструктура.

E.A. Kuznetcova, V.Yu. Zomitev, E.A. Kuznetcova, E.G. Shuvaeva
State University-Education-Science-Production Complex (Orel, Russian Federation)

THE USE OF BIOCATALYSTS ON THE BASIS OF CELLULASE AND PHYTASE TO REDUCE THE CONTENT OF HEAVY METALS IN GRAIN CEREALS

Heavy metals are localized in the peripheral parts of the grain together with compounds that provide the nutritional value of food. A modification of the non-starchy polysaccharides and fitina to reduce the content of heavy metals. Studied the process of migration of heavy metals under the action of a complex enzyme preparation on the basis of cellulase and phytase (producer Penicillium canescens). The results of microstructural studies and determination of content of heavy metals using atomic absorption spectrophotometry.

Key words: grain, wheat, heavy metals, enzymes, modification, polysaccharides, phytin, microstructure.

Современные технологии переработки зерна злаковых культур при производстве продуктов питания основаны на получении муки различных сортов с использованием шелушения зерна, при котором удаляется более 20% его массы. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что мука высшего сорта практически не содержит солей тяжелых металлов [Конева и др., 2002]. Однако при сортовом помоле удаляется большая часть биологически активных компонентов: витаминов, биогенных минеральных элементов, пищевых волокон, а также некоторое количество незаменимых аминокислот и белков. Применение в пищу рафинированных продуктов, в том числе из зерна злаков, все больше вызывает обеспокоенность у медиков и специалистов в области физиологии и гигиены питания из-за получивших распространение так называемых болезней цивилизации (ожирение, атеросклероз, диабет и др.). В связи с этим особое значение приобретает разработка способов снижения содержания токсических элементов в зерновом сырье для повышения безопасности продуктов его переработки.

Локализация токсических элементов в периферических частях зерна злаковых культур указывает на возможность их связи с полисахаридами клеточных стенок и фитиновой кислотой алейронового слоя. Некрахмальные полисахариды и фитаты встречаются вместе в богатых клетчаткой периферических частях зерновки, поэтому трудно отделить роль целлюлозы, гемицеллюлоз и фитатов в связывании наиболее существенных ионов поливалентных металлов [Torre et al., 1991]. Механизм защиты растений от поступления высокого уровня тяжелых металлов в клетки и ткани заключается в связывании большей части металлов клеточной стенкой. В литературе приводятся данные о том, что в случае повреждения клеточных мембран наблюдается пассивная утечка соединений металлов из различных компартментов клетки. Низкие значения pH, а также присутствие экзаметаболитов и комплексонов играют важную роль в стратегии снижения внутриклеточного уровня токсических элементов [Дмитриева и др., 2003].

Модификация нативной структуры оболочек под действием ферментных препаратов может привести к высвобождению некоторого количества тяжелых металлов и в определенных условиях при замачивании зерна к миграции за пределы зерновки, обеспечив тем самым снижение их концентрации в зерне и повышение безопасности продуктов его переработки.

Для исследования брали зерно озимой пшеницы сорта Московская 139, полученное в Московском НИИ сельского хозяйства «Немчиновка». Использовали сухой комплексный ферментный препарат на основе целлюлаз и фитазы, включающий целлюлазу, β-глюканазу, ксиланазу, фитазу (Р-215, продуцент *Penicillium canescens*,

ИБФМ РАН). Ферменты имели следующие активности: целлюлаза — 58711, ксиланаза — 12135, β-глюканаза — 51317, фитаза — 205268 нкат/г. Препарат был предоставлен лабораторией физико-химической трансформации полимеров химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Ферментный препарат в виде порошка смешивали с помощью магнитной мешалки с цитратным буфером (pH 4,5) в течение 0,5 часа при концентрации 0,6 г/л перед помещением в раствор зерна. Указанная концентрация ферментов соответствует оптимальной при производстве хлеба из целого зерна пшеницы. Целое зерно пшеницы выдерживали в растворе ферментного препарата при соотношении зерно: раствор 1 : 1,5 в течение 8 часов при температуре 50 °С в термостате. Режимы гидролиза (t = 50 °С, pH = 4,5) являются оптимальными для действия ферментов, входящих в состав препарата. Продолжительность гидролиза зернового субстрата определялась временем, в течение которого влажность зерна достигает 40% и более, что необходимо для получения зерновой массы, способной подвергаться диспергированию и позволит использовать зерновое сырье для производства зерновых хлебобулочных изделий. После инкубации инактивация ферментов не проводилась. Содержание тяжелых металлов в зерне определяли после сухого озоления на атомно-абсорбционном спектрофотометре Hitachi 180-80. Микроструктурные исследования проводили с помощью электронного сканирующего микроскопа JEOL JSM 6390.

В таблице представлены результаты исследования изменения содержания тяжелых металлов в зерне пшеницы после обработки ферментным препаратом без промывания водой и после промывания водой.

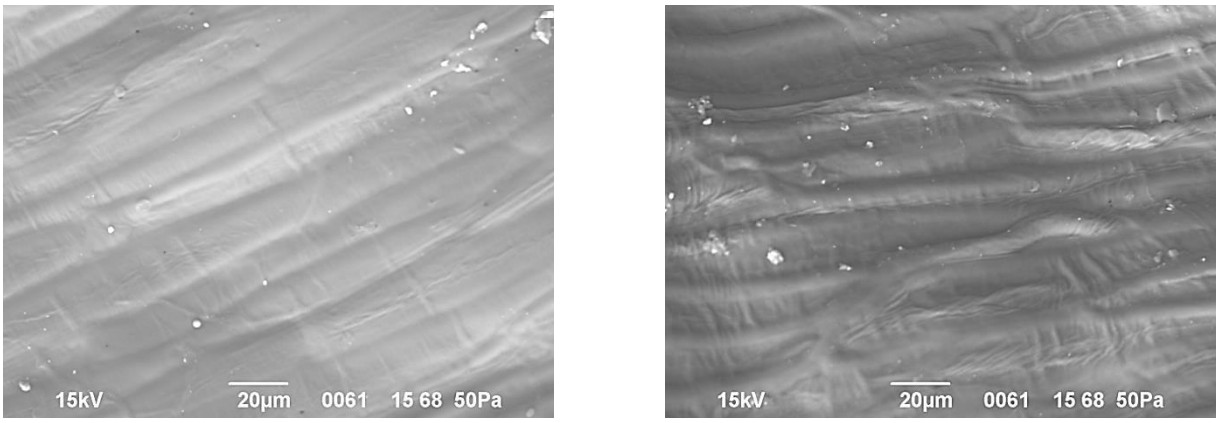
Влияние биокатализаторов на основе целлюлаз и фитазы на содержание тяжелых металлов в зерне пшеницы

Вариант опыта	Содержание элементов в зерне, мг/кг					
	Cd	Pb	Ni	Zn	Cu	Cr
Без промывания водой						
Контроль (вода без ферментных препаратов)	0,653 ± 0,010	0,259 ± 0,013	0,454 ± 0,012	23,230 ± 0,141	2,133 ± 0,026	0,211 ± 0,012
Препарат на основе фитазы	0,204 ± 0,010	0,154 ± 0,013	0,327 ± 0,012	20,036 ± 0,179	1,804 ± 0,028	0,118 ± 0,007
После промывания водой						
Контроль (вода без ферментных препаратов)	0,529 ± 0,021	0,222 ± 0,012	0,329 ± 0,015	23,006 ± 0,050	2,011 ± 0,030	0,202 ± 0,008
Препарат на основе фитазы	0,097 ± 0,011	0,060 ± 0,007	0,102 ± 0,011	19,384 ± 0,030	1,589 ± 0,034	0,115 ± 0,008

Экспериментальными исследованиями промывных вод и морфологических частей зерновки после промывания проточной водой доказано, что происходит сдвиг равновесия концентрации ионов изучаемых химических элементов в сторону жидкой фазы. Промывание зерна проточной водой приводит к дальнейшему снижению содержания токсичных элементов в зерновке. Так, при применении ферментного препарата содержание свинца в зерне пшеницы после промывания снизилось по сравнению с контролем без ферментных препаратов и без промывания на 88,1%, кадмия — на 74,2, никеля — на 87,8, цинка — на 22,0, меди — на 33,4 и хрома — на 47,4%, в зерне ржи — на 60,2, 64,9, 62,1, 12,9, 28,9, 27,9%, в зерне тритикале на 70,8, 63,3, 64,1, 9,3, 9,6 и 51,2% соответственно. Промывание зерна привело к выносу ионов с промывными водами за пределы твердой фазы.

На рисунке представлены микрофотографии поверхности зерна пшеницы, обработанного растворами исследуемых ферментных препарата при оптимальных условиях гидролиза. Фотографии выполнены с помощью электронного сканирующего микроскопа при увеличении 700х.

Под действием биокатализаторов на основе целлюлаз произошло изменение рельефа поверхности зерна. В контрольном варианте разрушение поверхностного слоя полисахаридов матрикса слабо выражено и рельеф поверхности зерна представляет собой параллельные тяжи целлюлозных фибрилл, перекрытых слоем полисахаридов гемицеллюлозной природы [Конева и др., 2002].



1 2

Микрофотографии поверхности зерна пшеницы, обработанного ферментами целлюлазного комплекса:
1 — контроль без ферментов, 2 — комплексный ферментный препарат, увеличение х700

Под действием комплекса ферментов целлюлазы, β-глюканазы и ксиланазы [Haraldsson et al., 2004] складки рельефа поверхности зерновки образуются достаточно глубокие, они представлены параллельными кутикулярными тяжами практически лишенными поперечных сшивок. В результате согласованного действия ферментов комплексного препарата изменяется рельеф поверхности зерна, увеличиваются размеры пор в семенной и плодовой оболочках, что способствует проникновению фермента фитазы в алейроновый слой к месту гидролиза фитина. Haraldsson et al. (2004) указывается на возможность совмещения деградации фитата с деградацией ß-глюкана при совместном действии фитазы и ß-глюканазы при солодоращении, что представляет интерес для производства зерновых продуктов с повышенной пищевой ценностью. Однако согласно приведенным нами исследованиям, деградация фитата в большей степени связана с присутствием в составе комплекса ферментного препарата ксиланазы, также интенсивность гидролиза фитина максимальна, если на зерновой субстрат действует комплексный ферментный препарата, содержащий целлюлазу, β-глюканазу, ксиланазу.

Под влиянием биокатализаторов на основе целлюлаз полисахариды, составляющие матрикс клеточных стенок, модифицируются, нарушается система нативных межмолекулярных связей между основными структурными компонентами полисахаридного комплекса, происходит процесс мацерации структур оболочек и частичная фрагментация самих полимеров. Это обеспечивает разрушение межклеточного вещества, приводя к разъединению клеток, солюбилизации продуктов гидролиза и глубокому проникновению хелатора через измененные поры. Изменение структуры некрахмальных полисахаридов, входящих в состав матрикса, приводит к нару-

шению связей между полисахаридами и металлом, представляющим собой резервный фонд или изолированных от метаболических превращений в связи с токсичностью. Процесс сопровождается десорбцией ионов тяжелых металлов.

Таким образом, использование биокатализаторов на основе целлюлаз и фитазы приводит к снижению содержания тяжелых металлов в зерновом сырье при его подготовке к производству продуктов из целого нешелушенного зерна.

Библиографический список

Конева С.И., Козубаева Л.А., Попова В.Ф. Оценка безопасности хлеба из диспергированного зерна пшеницы // Хранение и переработка зерна. 2002. №8. С. 43–44.

Дмитриева А.Г., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л. Физиология растительных организмов и роль металлов. М., 2002. 160 с.

Torre M., Rodriguez A.R., Saura-Calixto F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability // (Review) Critical reviews in food science and nutrition. 1991. Vol. 30, Issue 1. P. 1–22.

Haraldsson A.-K., Rimsten L., Alminger M.L. Andersson R., Andlid T., Åman P., Sandberg A.-S. Phytate content is reduced and β-glucanase activity suppressed in malted barley steeped with lactic acid at high temperature // Journal of the Science of Food and Agriculture. 2004. Vol. 84, Issue 7. P. 653–662.

УДК 664.661.3

С.С. Кузьмина, Л. А. Козубаева

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УНИКАЛЬНОГО ПРОДУКТА АЛТАЙСКОГО КРАЯ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Исследована целесообразность использования уникального продукта Алтайского края БАД «Панторин» при приготовлении булочных изделий. Установлено, что булочные изделия с добавлением БАД «Панторин» в виде водного раствора с концентрацией 30% имеют хорошие показатели качества и содержат суточную норму потребления биологически активных веществ.

Ключевые слова: биологически активная добавка «Панторин», панты, качество, булочные изделия, пищевая ценность, минеральный состав.

S.S. Kuzmina, L.A. Kozubaeva

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

PROSPECTS FOR THE USE OF THE UNIQUE PRODUCT OF THE ALTAI TERRITORY IN THE PRODUCTION OF BAKERY PRODUCTS

In this study we investigated the feasibility of using a unique product of Altai Krai BAD «Pantorin» in the preparation of bakery products. Found that bakery products with added BAD «Pantorin» in the form of an aqueous solution with a concentration of 30% are of good quality and contain a daily intake of biologically active substances.

Key words: biologically active additive «Pantorin», antlers, quality, bakery products, nutritional value, mineral composition.

Пантовое оленеводство — сравнительно молодая и динамично развивающаяся отрасль сельского хозяйства Российской Федерации. Пантовое оленеводство в России территориально развивается неравномерно, так как привязано к местам естественного обитания марала и пятнистого оленя. Около 85% от общего стада панто-

вых оленей находится на территории Республики Алтай и Алтайского края. Панты — это молодые неокостеневшие рога, снятые в период роста и законсервированные по определенной технологии. Качество пантовой продукции зависит от химического состава, который обусловлен возрастом животных, климатическими условиями обитания, питанием оленей, стадией роста пантов [Огнев, 2011, с. 1].

Разработка концепции использования уникальных биологически активных добавок из пантового сырья обусловлена рядом факторов:

- произошло изменение качества продуктов питания в связи с обеднением почв и накоплением ксенобиотиков, сдвигом сельскохозяйственных культур в сторону высокоурожайных и исчезновением из рациона питания полезных низкоурожайных и дикорастущих растений, дичи и других элементов питания — важнейших поставщиков биологически активных элементов;
- наблюдается значительный рост заболеваемости населения, обусловленных воздействием на организм неблагоприятных факторов окружающей среды, эмоциональных нагрузок, возрастанием требований к функциональной активности организма [Бочаров, 2005, с. 107; Козлов, 2012, с. 45].

В пантах маралов алтае-саянской породы содержится 577 мг/г общих аминокислот, из них 189 мг/г незаменимых, 4 мг/г свободных аминокислот, 293 мг/г коллагена. Аминокислотный состав включает изолейцин, треонин, серин, глицин, аланин, валин, метионин, глутамин, фенилаланин, лизин, аргинин, триптофан, оксипролин. Витаминов в 100 г содержится 129 мг. Панты имеют сложную химическую структуру. Минеральный состав включает около 20 элементов, из них кальций, фосфор, калий, натрий, магний, железо, марганец, медь, цинк, в малых количествах имеются никель, медь, титан, олово, свинец, барий. Микроколичественно представлены ванадий, стронций, бор, молибден.

Панты алтайского марала и пятнистого оленя, входящие в состав добавки, содержат биокомплекс хондроитинсульфата и фосфолипидов. Хондроитинсульфат способствует ускорению восстановительных и снижению разрушительных процессов в хрящевой ткани и суставе в целом. Фосфолипиды —улучшению обмена веществ в клетках хряща, обеспечивая согласованную работу суставов. Кроме того, в пантах присутствуют гормоны, гормоноподобные вещества, факторы роста: тестостерон, эстрадиол, дегидроэпиандростерон, инсулиноподобный фактор роста 1, инсулиноподобный фактор роста 2, альфа-трансформирующий фактор роста, бета-трансформирующий фактор роста, эпидермальный фактор роста, фактор роста нервов, цилиарный нейротрофический фактор, костный морфогенетический протеин, интерлейкин-2, интерлейкин-6. Следует отметить, что химический состав пантов марала не является величиной постоянной и зависит от многих составляющих (время срезки, условия жизнедеятельности животных и т.д.).

Являясь основным поставщиком сырья, Россия производит ряд препаратов из пантов марала в виде порошка, муки, таблеток, капсул, которые распространяются не только через аптеки, но и в качестве биологически активных добавок к пище [Продукция из пантов…].

Важной особенностью биокомплексов является то, что они представляют собой комплексный набор экзогенных биологически активных веществ, адекватно влияющих на метаболические системы организма в условиях реального пищевого и экологического статуса. Все биологически активные вещества находятся в созданных природой соотношениях и многие из них являются синергистами и потенцируют действие друг друга [Козлов, 2012, с. 45].

Включение в пищевой рацион биологически активной добавки «Панторин» позволит обеспечить человека энергетическим и пластическим материалом, контро-

лировать и оптимизировать его психосоциальное поведение, некоторые физиологические функции, биохимические реакции, а в конечном счете — способствовать поддержанию здоровья, снижать риск возникновения заболеваний и ускорять процесс выздоровления. В качестве профилактического средства для предупреждения острых заболеваний и развития осложнений при хронической патологии, для повышения тонуса сердечно-сосудистой системы, особенно при наклонности к гиподинамии, с целью усиления и ускорения репарации заживления различных тканей организма [Козлов, 2012, с. 46–47].

Биологически активная добавка «Панторин» (ТУ 9197-001-24269362-06) относится к лекарственным средствам, представляет собой бесспиртовый экстракт из пантов марала и пятнистого оленя, полученный путем отгонки спирта и доведением первоначального объема сахарным сиропом. В состав добавки входит 5 г чистой биомассы пантов марала и 5 г биомассы пантов пятнистого оленя на 100 мл продукта. Данный продукт не содержит спирт, что позволяет применять его детям, беременным и кормящим женщинам, алкоголезависимым людям. Показатели качества БАД «Панторин» представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели качества БАД «Панторин»

Наименование показателя	Значение показателя
Внешний вид	Прозрачная вязкая жидкость, незначительная опалесценция
Цвет	Темно-коричневый с красноватым оттенком
Вкус	Сладкий, с привкусом ароматизатора «малина», продукта пантов
Запах	Запах ароматизатора «малина»
Содержание сухих веществ, %	34,0
Кислотность, град	1,8

Хлебобулочные изделия занимают исключительно важное и лидирующее положение в повседневном питании человека. За счет низкого содержания витаминов, минеральных веществ, пищевых волокон они нуждаются в коррекции микронутриентного дефицита посредством внесения различных добавок. Хлебобулочные изделия функционального и специального назначения, способные оказывать благоприятное воздействие на физиологические функции, метаболические и поведенческие реакции, разрабатываются на кафедре «Технология хранения и переработки зерна» Алтайского государственного технического университета имени И.И. Ползунова [Кузьмина, 2013, с. 79–82; Кузьмина, 2013, с. 60–63].

С целью повышения пищевой ценности и расширения ассортимента булочных изделий осуществляли их обогащение уникальным продуктом пантового оленеводства — БАД «Панторин». Для этого использовали водный раствор БАД «Панторин» с концентрацией от 10% до 30% взамен части воды, используемой при замесе теста.

Содержание сухих веществ БАД «Панторин» в водном растворе представлено в таблице 2. В качестве базовой использовали рецептуру булки «Городская».

Тестоприготовление проводили безопарным способом. Для сравнения результатов исследования готовили булочные изделия без добавления БАД «Панторин» — контроль. Заменяя 30% воды эквивалентным количеством добавки, получаем необходимую дозировку суточного потребления БАД в профилактических целях при потреблении булочных изделий массой 50 г.

Таблица 2

Содержание сухих веществ БАД «Панторин» в водном растворе

Концентрация БАД «Панторин», %	Содержание сухих веществ, %	Количество добавки на 100 кг муки (взамен воды), л
10	3,4	6,27
15	5,1	9,14
20	6,8	12,55
25	8,5	15,69
30	10,2	18,83

Органолептическая оценка булочных изделий с добавлением БАД «Панторин» показала, что все булочные изделия имели правильную форму, гладкую поверхность корки, цвет которой при увеличении дозировки БАД «Панторин» изменялся от светло-коричневого до коричневого с красноватым оттенком. Цвет мякиша менялся в зависимости от концентрации вносимой добавки. Так, при внесении раствора БАД «Панторин» с концентрацией 10 и 15% цвет мякиша не изменялся. При дальнейшем увеличении концентрации раствора мякиш изделия приобретал коричневый оттенок. Это связано с тем, что БАД «Панторин» имеет коричневый цвет с красноватым оттенком.

Кроме того, булочные изделия приобретали вкус и запах вносимой добавки, интенсивность которых нарастала с повышением концентрации «Панторина».

Влияние добавления БАД «Панторин» на массовую долю влаги булочных изделий представлено на рисунке 1.

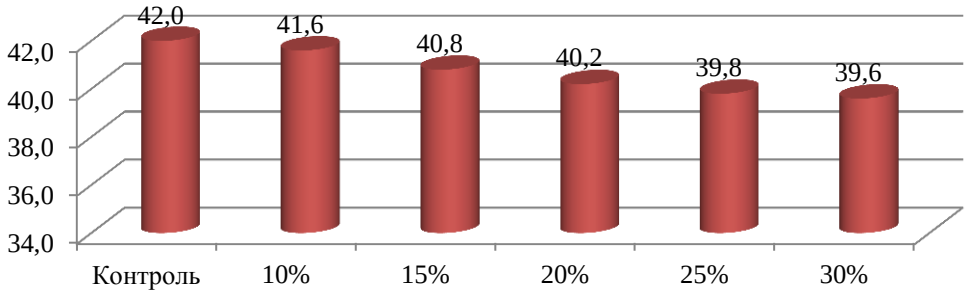


Рис. 1. Влияние добавления БАД «Панторин» на массовую долю влаги булочных изделий

Как видно из рисунка, массовая доля влаги изделий постепенно снижалась с увеличением концентрации БАД «Панторин». Связано это с тем, что добавка, используемая взамен части воды, содержит определенное количество сухих веществ.

Изменение кислотности булочных изделий с БАД «Панторин» представлено на рисунке 2. Увеличение кислотности булочных изделий связано с повышением концентрации добавки, имеющей в своем составе органические кислоты.

Влияние добавления БАД «Панторин» на пористость булочных изделий представлено на рисунке 3.

Как видно из представленных данных, добавление БАД «Панторин» способствовало повышению пористости булочных изделий по сравнению с контролем. Следует отметить, что внесение добавки с концентрацией 20% и 25% привело к получению изделий с максимальным значением пористости — 77%. Содержащийся в добавке сахар оказал стимулирующее воздействие на бродильную активность

дрожжевых клеток, и, как следствие, привел к усилению газообразования в тесте и росту показателя пористости изделия.

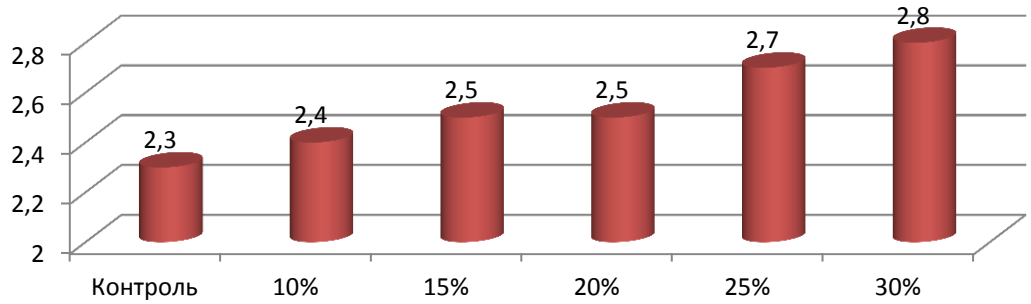


Рис. 2. Влияние добавления БАД «Панторин» на кислотность булочных изделий

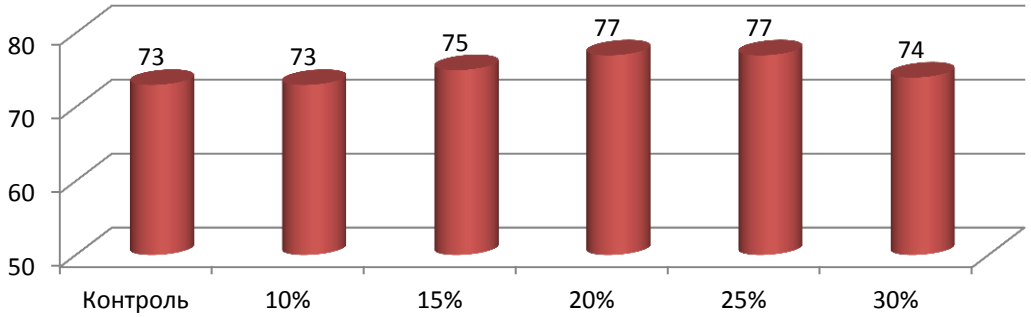


Рис. 3. Влияние добавления БАД «Панторин» на пористость булочных изделий

Массовая доля сахара и массовая доля жира являются показателями, регламентируемыми нормативной документацией на булочные изделия. Эти изделия характеризуются содержанием большого количества сахара и жира, которые придают им вкус, запах и интенсивную окраску корки. На массовую долю сахара и массовую долю жира в изделии влияют содержание сахара и жира в сырье, используемом для его приготовления.

В работе проводили определение массовой доли сахара и массовой доли жира в разрабатываемых изделиях. Эти показатели определяли расчетным способом с использованием справочных таблиц содержания основных пищевых веществ и энергетической ценности пищевых продуктов [Скурихин, 1987, с. 26–27], а также химического состава БАД «Панторин» [Козлов, 2012, с. 11]. Результаты расчета представлены в таблице 3.

Массовая доля сахара в булочных изделиях повышалась с увеличением концентрации добавки за счет внесения сахаров, содержащихся в БАД «Панторин». Внесение биологически активной добавки не повлияло на массовую долю жира в изделиях, так как в состав добавки не входит этот компонент.

Таким образом, на основании серии проведенных исследований установили, что внесение биологически активной добавки «Панторин» способствовало получению булочных изделий с хорошими органолептическими и физико-химическими показателями качества.

Таблица 3

Массовая доля сахара и массовая доля жира в булочных изделиях с БАД «Панторин»

Концентрация БАД «Панторин» в булочных изделий	Массовая доля сахара, %	Массовая доля жира, %
Контроль	7,18	2,68
10%	8,88	2,68
15%	9,73	2,68
20%	10,58	2,68
25%	11,43	2,68
30%	12,28	2,68

Рекомендуемая концентрация БАД «Панторин» для производства булочных изделий при безопарном способе тестоприготовления составила 20–25%. Однако изделия, приготовленные с БАД «Панторин» с концентрацией 30%, имели пористость 74%, что не ниже пористости контрольного образца.

Следует отметить, что при производстве булочных изделий наиболее часто применяют опарные способы приготовления теста. В связи с этим одним из аспектов работы являлось изучение влияния способа приготовления теста на качество булочных изделий с БАД «Панторин».

Для проведения исследований осуществляли приготовление теста для булочных изделий на густой опаре с применением водного раствора БАД «Панторин» с концентрацией 30%. При этом содержание сухих веществ добавки в водном растворе соответствовало 10,2%. Для сравнения результатов исследования в качестве контроля использовали изделие, тесто которого готовили безопарным способом с внесением БАД «Панторин» с той же концентрацией.

Выпекали следующие образцы:

- контроль — изделие, приготовленное с внесением БАД «Панторин» на стадии приготовления теста безопарным способом;
- образец 1 — изделия, приготовленные с внесением БАД «Панторин» на стадии приготовления опары;
- образец 2 — изделия, приготовленные с внесением БАД «Панторин» на стадии приготовления теста.

Рецептура образцов представлена на рисунках 4 и 5. Влияние способов приготовления теста на физико-химические показатели качества булочных изделий с БАД «Панторин» представлено в таблице 4.

Таблица 4

Физико-химические показатели качества булочных изделий с БАД «Панторин

Наименование показателя	Контроль	Образец 1	Образец 2
Массовая доля влаги, %	39,6	39,4	39,6
Кислотность, град	2,8	3,0	2,8
Пористость, %	74	76	74

Как видно из представленных данных, способ приготовления теста не оказал существенного влияния на массовую долю влаги и кислотность булочных изделий с БАД «Панторин».

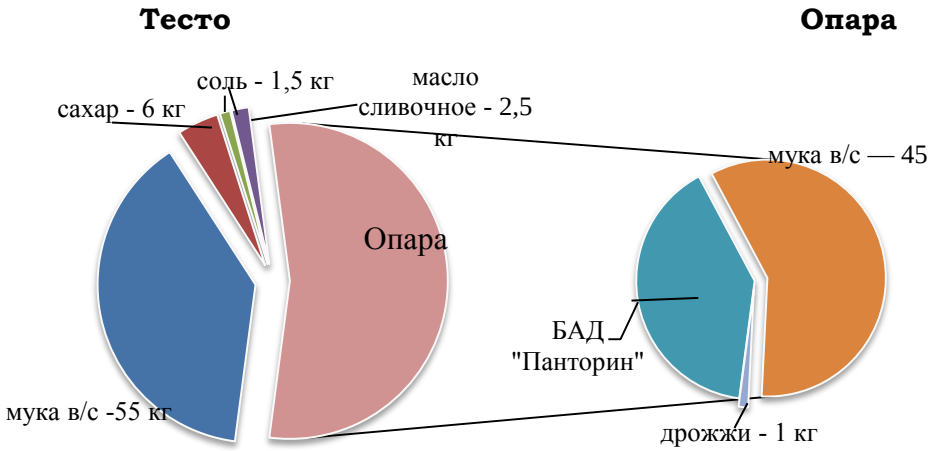


Рис. 4. Рецептура булочных изделий с БАД «Панторин» (образец 1)

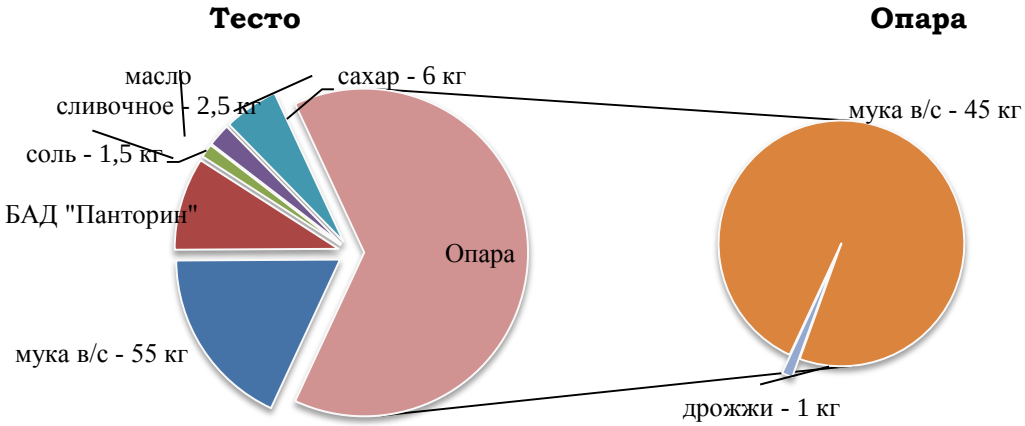


Рис. 5. Рецептура булочных изделий с БАД «Панторин» (образец 2)

Следует отметить, что внесение добавки на стадии приготовления теста (образец 1) способствовало повышению значения пористости изделий.

Органолептические оценки как образца 1, так и образца 2 существенно не отличались от органолептической оценки контроля — булочных изделий с БАД «Панторин», приготовленных безопарным способом.

Таким образом, внесение уникального продукта Алтайского края при любом способе приготовления теста позволило повысить физико-химические показатели булочных изделий, сохранить органолептические характеристики на хорошем уровне, а также способствовало увеличению их пищевой ценности.

Библиографический список

Бочаров С.Н., Попов А.П., Сакпачаков В.И. Пантовое оленеводство и его значение для республики Алтай // Вестник Алт. гос. техн. ун-та им. И.И. Ползунова. 2005. №1/2. С. 107–111.

Козлов Б.И. Лечебно-оздоровительное использование продуктов пантового оленеводства : науч.-практ. пособие для врачей и фармацевтов. 2-е изд., испр. и перераб. Барнаул, 2012. 67 с.

Огнев С.И. Научно-практическое обоснование продуктивно-биологических характеристик маралов алтае-саянской породы : автореф. дис. … д-ра с.-х. наук. Барнаул, 2011. 16 с.

Кузьмина С.С., Козубаева Л.А. Особенности приготовления хлеба повышенной пищевой ценности // Вестник алтайской науки. 2013. №2-1. С. 79–82.

Кузьмина С.С., Козубаева Л.А. Перспективы использования ржаных отрубей для интенсификации созревания теста // Современное состояние и перспективы развития пищевой промышленности и общественного питания : материалы VI Междун. науч.-практ. конф., Челябинск, 7 декабря 2012 г. : в 2 т. Челябинск, 2013. Т. 1. С. 60–63.

Продукция из пантов алтайского марала [Электронный ресурс]. URL: http://altay96.ru/ tovary/produktsiya-iz-pantov-marala.html.

Химический состав пищевых продуктов. Кн. 1 : Справочные таблицы содержания основных пищевых веществ и энергетической ценности пищевых продуктов / под ред. И.М. Скурихина и М.Н. Волгарева. 2-е изд., перераб. и доп. М., 1987. 224 с.

УДК 57.083.26:582.28

А.А. Лукаткин, А.С. Лукаткин

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия)

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ БИОПРЕПАРАТА, СОЗДАННОГО ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ, НА РОСТ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ*

При выращивании бактерий *Pseudomonas aureofaciens* на послеспиртовой барде получен биопрепарат с антифунгальной активностью. Поверхностное и глубинное культивирование фитопатогенных грибов *Botrytis cinerea, Fusarium culmorum, Alternaria infectoria* и *Alternaria solani* с биопрепаратом в различных разведениях (1 : 100, 1 : 200, 1 : 500) позволило выяснить концентрационные эффекты биопрепарата в отношении различных патогенов.

***Ключевые слова*:** послеспиртовая барда, утилизация, бактерии, *Pseudomonas aureofaciens*, биопрепарат, концентрация, антифунгальная активность, фитопатогенные грибы.

A.A. Lukatkin, A.S. Lukatkin

N.P. Ogarev Mordovia State University (Saransk, Russia)

CONCENTRATION EFFECTS OF BIOPREPARATION CREATED DURING THE PROCESSING OF DISTILLERY DREGS UPON GROWTH OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI

Biological product with antifungal activity revealed during growth of bacteria *Pseudomonas aureofaciens* on distillery dregs. Surface and deep culturing of pathogenic fungi *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *Alternaria infectoria* and *Alternaria solani* with biopreparation in various dilutions (1 : 100, 1 : 200, 1 : 500) to find out concentration effects allowed biopreparation against various pathogens.

***Key words*:** distillery dregs, waste, bacteria, *Pseudomonas aureofaciens*, biopreparation, concentration, antifungal activity, phytopathogenic fungi.

В настоящее время исключительно важной проблемой в России является утилизация отходов спиртовой промышленности. Ежегодно предприятия по производству спирта вывозят на свалки и поля фильтрации, спускают в овраги, пруды и реки более 2 млрд тонн так называемых отходов — послеспиртовой барды, отработанных дрожжей и т.п. [Яровенко и др., 1999]. В связи с этим важной задачей является разработка технологий, которые позволят решить как экологические (снижение нагрузки на окружающую среду), так и экономические проблемы [Антипов, Журавлев, 2005]. К данному моменту разработаны немногочисленные технологии утилизации послеспиртовой барды с получением кормовых дрожжей, упаренной обессоленной барды на корм скоту, кормового витамина B_{12}, глутаминовой кислоты. Упаренная послеспиртовая барда — исходное сырье для производства гранули-

* Результаты получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России (проект №6.783.2014К).

рованного органо-минерального удобрения, используется как пластификатор бетона, разжижитель сырьевого шлама для производства цемента [Сорокодумов и др., 2005]. Однако все это позволяет утилизировать лишь малую часть отходов спиртовой промышленности.

Одним из эффективных способов утилизации барды может служить использование ее в качестве питательного субстрата для выращивания микроорганизмов. Перспективность барды как питательной среды обусловлена высоким содержанием белков, минеральных солей, остатков полисахаридов [Антипов, Журавлев, 2005]. Использование барды в качестве основы питательной среды будет способствовать улучшению экологического состояния, поскольку барда представляет опасность для окружающей среды вследствие низкого pH, высокого содержания нуклеиновых кислот и очень медленной утилизации в естественных условиях, в то же время она позволит снизить себестоимость продукции, получаемой при культивировании микроорганизмов. Среди них особое место занимают бактерии рода *Pseudomonas*, принадлежащие к группе PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria — ризобактерии, способствующие росту растений); они обладают рядом полезных для растений свойств, которые можно разделить на две группы: 1) прямая или непосредственная стимуляция роста растений за счет синтеза различных метаболитов, полезных для растения; 2) опосредованная стимуляция роста растений за счет вытеснения и подавления развития почвенных фитопатогенов или микроорганизмов, угнетающих рост растений [Кравченко и др., 2002]. Бактерии рода *Pseudomonas* — антагонисты почвенных фитопатогенов; механизмы их воздействия включают супрессирующее влияние псевдомонад на фитопатогены как за счет синтеза сидерофоров, антибиотиков и других вторичных метаболитов, так и за счет конкуренции PGPR *Pseudomonas* и фитопатогенов за источники азотного и углеродного питания [Glick et al., 1994; Широков и др., 2004; Kloepper, 2005].

При культивировании *P. aureofaciens* на жидкой фракции послеспиртовой барды был получен антифунгальный препарат [Лукаткин, 2010], обладающий высокой активностью против ряда фитопатогенных грибов [Лукаткин и др., 2009]. Были изучены характеристики созданного биопрепарата и показано сохранение высокого титра бактерий в течение длительного времени. Однако слабо выяснены концентрационные эффекты биопрепарата в отношении различных фитопатогенных грибов, что и послужило целью данной работы.

Объектом исследования служил биопрепарат на основе культуральной жидкости (КЖ) бактерий *Pseudomonas aureofaciens*, выращиваемых на послеспиртовой барде. В качестве фитопатогенов использовали грибы *Botrytis cinerea, Fusarium culmorum, Alternaria infectoria* и *Alternaria solani*.

Поверхностное культивирование фитопатогенов проводили в течение 16–18 суток при температуре 20–23 °С в чашках Петри на картофельной агаризованной среде, в которую добавляли биопрепарат (КЖ) в разведениях 1 : 100, 1 : 200, 1 : 500. В ходе культивирования вели наблюдение за развитием микроорганизмов. О микопаразитической активности биопрепарата судили по диаметру колоний и структуре мицелия грибов.

Глубинное культивирование микроорганизмов (грибов) с биопрепаратом осуществляли в конических колбах Эрленмейера на минеральной среде, содержащей биопрепарат в таких же разведениях, как и при поверхностном культивировании. Культивирование проводили в статических условиях. Периодически микроскопировали полученные суспензии и следили за проявлением микопаразитической активности псевдомонад. Микроскопирование фиксированных препаратов, окрашенных по Граму и метиленовым синим, проводили с помощью цифровой фотомикроско-

пической системы на базе микроскопа «UNICOM». Ростовой коэффициент (РК) грибов на агаризованных средах определяли по приросту (диаметру и высоте колонии) с учетом плотности колонии.

На первом этапе работы изучали влияние концентрации биопрепарата на рост фитопатогенов при твердофазном культивировании (по развитию грибного мицелия). В контроле (картофельный агар без внесения КЖ) рост *F. culmorum* наблюдался в виде плотного пушистого мицелия, с хорошо разветвленными гифами. На 9-е сутки роста отмечено полное зарастание чашки мицелием. Рост *B. cinerea* проходил слабее, колонии кремово-розового цвета имели неразветвленную поверхность. *A. infectoria* развивалась в виде плотного пушистого мицелия серого, темно-серого или розоватого цвета, с относительно развитыми гифами; на 5–10-е сутки культивирования наблюдали интенсивное спороношение, обычно в центре колонии. Рост *A. solani* был представлен большим количеством колоний, которые имели неразветвленный плотный мицелий серого или оливкового цвета.

Рост фитопатогенов в присутствии КЖ бактерий значительно отличался от контрольного варианта. Так, при разведении биопрепарата в 500 раз *B. cinerea* развивался медленно, в виде плотного мицелия, прилегающего к поверхности агара, и рост гриба прекратился на 12-е сутки. В начальный период культивирования *F. culmorum* на среде с внесением КЖ наблюдали интенсивный рост гриба, мицелий имел рыхлую структуру в виде тонких слабо ветвящихся гиф; впоследствии рост замедлялся, и на 11-е сутки культивирования развитие фитопатогена прекратилось. Рост *A. solani* подавлялся биопрепаратом (1 : 500) на 13-е сутки. На рост *A. infectoria* биопрепарат действовал несколько лучше по сравнению с *A. solani*, развитие прекратилось на 12-е сутки.

При использовании КЖ с разведением 1 : 200 наблюдали более сильное антагонистическое действие бактерий на рост фитопатогенов. Развитие *F. culmorum*, *B. cinerea*, A. *infectoria* прекратилось уже на 11-е сутки культивирования. Мицелий *F. culmorum* был менее плотным, имел редкие тонкие гифы по сравнению с контрольным образцом. Рост *A. solani* остановился на 12-е сутки. Колонии имели плотный мицелий, на 5-е сутки роста появлялся редкий воздушный мицелий и выделялся зеленый пигмент.

При культивировании фитопатогенов с биопрепаратом в разведении 1 : 100 рост *F. culmorum* и *A. infectoria* прекратился на 10-е сутки. Мицелий *F. culmorum* развивался слабо, структура была рыхлой, нитевидной (при разведении биопрепарата 1 : 200 колония была более плотной).

При культивировании *B. cinerea* мицелий развивался медленно, развитие гриба прекратилось на 11-е сутки, максимальный диаметр колоний составил 15 мм. Рост *A. solani* прекратился на 10-е сутки культивирования (на 3 дня раньше, чем при разведении КЖ 1 : 500).

В ходе работы был определен ростовой коэффициент всех фитопатогенов. Так, для *F. culmorum* РК составил 2,7 (разведение биопрепарата 1 : 500); 2,1 (1 : 200); 1,7 (1 : 100), т.е. происходило снижение ростового коэффициента с возрастанием концентрации биопрепарата Аналогичная закономерность наблюдалась и для других грибов. Таким образом, с увеличением концентрации биопрепарата рост фитопатогенов замедлялся. Максимальная активность биопрепарата отмечена по отношению к *B. cinerea*.

Во второй серии опытов изучали влияние биопрепарата на развитие фитопатогенов при глубинном культивировании на водно-солевой среде. При микроскопировании контрольных вариантов наблюдали четкие ярко окрашенные гифы *F. Culmorum, B. cinerea, A. solani* и *A. infectoria*. При глубинном культивировании

грибов с биопрепаратом гифы гриба становились менее окрашенными. Так, на 5-е сутки культивирования *F. culmorum* с биопрепаратом (1 : 100) гифы гриба имели яркую окраску, четкий контур, вдоль них концентрировались бактериальные клетки. Но уже на 10-е сутки гифы были светлые, что указывает на лизис мицелия. Аналогичным образом, на 2-е сутки культивирования *B. cinerea* гифы ярко окрашены, вокруг них наблюдалось большое количество бактериальных клеток. При дальнейшем культивировании начинался лизис мицелия, и к 10 суткам наблюдались непрокрашенные гифы. При длительном культивировании *A. infectoria* с биопрепаратом лизис усиливался, и при микроскопировании были видны лишь лизированные гифальные участки на фоне многочисленных скоплений бактериальных клеток. При культивировании *A. solani* с биопрепаратом (1 : 100) также наблюдалось антагонистическое действие бактерий. Активный лизис мицелия фитопатогенов уже на ранних сроках культивирования с биопрепаратом свидетельствует о высокой ферментативной активности бактерий, которые использовали грибной мицелий в качестве питательного субстрата. Со снижением концентрации вносимого в среду биопрепарата (1 : 200 и 1 : 500) миколитическая активность несколько снижалась, но это слабо влияло на рост грибного мицелия.

Таким образом, биопрепарат, полученный при выращивании *Pseudomonas aureofaciens* на жидкой фракции послеспиртовой барды, оказывал подавляющее действие по отношению к грибным фитопатогенам, и степень миколитического воздействия возрастала с увеличением концентрации биопрепарата. При глубинном культивировании *F. culmorum, B. cinerea*, *A. solani*, *A. infectoria* с биопрепаратом, независимо от его концентрации, наблюдался активный лизис грибного мицелия уже на ранних стадиях.

Библиографический список

Антипов С.Т., Журавлев А.В. Послеспиртовая зерновая барда: технология переработки // Производство спирта и ликероводочных изделий. 2005. №4. С. 9–11.

Кравченко Л.В., Макарова Н.М., Азарова Т.С., Проворов Н.А. Выделение и фенотипическая характеристика ростстимулирующих ризобактерий (PGPR), сочетающих высокую активность колонизации корней и ингибирования фитопатогенных грибов // Микробиология. 2002. Т. 71, №4. С. 521–525.

Лукаткин А.А. Получение бактериального препарата на основе жидкой фракции послеспиртовой барды и исследование его антифунгальных свойств : автореф. дис. … канд. биол. наук. Саранск, 2010. 24 с.

Лукаткин А.А., Ибрагимова С.А., Ревин В.В. Исследование антифунгальных свойств *Pseudomonas aureofaciens* 2006 // Вестник Оренб. гос. ун-та. 2009. №6. С. 211–213.

Сорокодумов С.Н., Кухаренко А.А., Винаров А.Ю. Повышение эффективности производства пищевого этанола за счет комплексного использования сырья и отходов // Пищевая промышленность. 2005. №4. С. 60–61.

Широков А.В., Логинов О.Н., Мелентьев А.И. Взаимодействие псевдомонад с фитопатогенами // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Вып. 9. С. 161–165.

Яровенко В.Л., Маринченко В.А., Смирнов В.А. Технология спирта. М., 1999. 464 с.

Glick B.R., Jacobson C.B., Schwarze M.M.K., Pasternak J.J. Does the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase play a role in plant growth-promotion by *Pseudomonas putida* GR12-2 // Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. 1994. №5. P. 150–152.

Kloepper J.W. Pseudomonas siderophores: a mechanism explaining disease-suppressive soil // Phytopathology. 2005. Vol. 71, №2. P. 232.

УДК 547:54-732:630*8:661.728:662.63:665

В.И. Маркин[1,2], И.Б. Катраков[1,2], Н.Г. Базарнова[1,2], Е.В. Калюта[3], М.И. Мальцев[3]

[1]Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

[2]Малое инновационное предприятие «Экохимия-Универсум» (Барнаул, Россия)

[3]Алтайский государственный аграрный университет (Барнаул Россия)

РЕГУЛЯТОР РОСТА «ЭКО-СТИМ»

На малом инновационном предприятии «Экохимия-Универсум» организовано производство росторегулирующего препарата ауксинового типа «Эко-СтиМ». Препарат испытан при выращивании пшеницы сорта Омская-36. Показана его высокая эффективность. При однократной обработке семян, урожай на опытном поле был выше на 20% по сравнению с контролем.

Ключевые слова: растительное сырье, химическое модифицирование, регулятор роста, ауксин.

V.I. Markin[1,2], I.B. Katrakov[1,2], N.G. Bazarnova[1,2], E.V. Kaliuta[3], M.I. Mal'tsev[3]

[1]Altai State University (Barnaul, Russia)

[2]Innovative enterprise «Ekokhimiia-Universum» (Barnaul, Russia)

[3]Altai State Agrarian University (Barnaul, Russia)

GROWTH REGULATORS «ECO-STIM»

On the small innovative enterprise «Ekokhimiia-Universum» organized the production of growth-regulating drug auxin such as «Eko-StiM» The drug tested in growing wheat varieties Omsk-36. It has shown its high efficiency. By a single treatment of seed, the crop on the experimental field was higher by 20% compared with the control.

Key words: vegetable raw materials, chemical modification, growth regulator, auxin.

На кафедре органической химии Алтайского государственного университета в течение продолжительного времени проводятся интенсивные исследования по изучению процессов и продуктов переработки растительного сырья без предварительного разделения на отдельные компоненты [Базарнова и др., 2011]. Получены продукты, которые имеют перспективы для их использования в качестве регуляторов роста растений. На малом инновационном предприятии «Экохимия-Универсум» внедрена технология производства регулятора роста с условным названием «Эко-СтиМ», который получен из химически модифицированного растительного сырья.

Традиционные регуляторы роста растений, как правило, — это индивидуальные органические вещества или фитогормоны, чаще всего применяемые как препараты узконаправленного действия: стимулирующие корнеобразование, повышающие иммунную устойчивость, способствующие бутоно- и плодообразованию. Их основными недостатками является относительная дороговизна, которая связана с очисткой вещества, и высокие требования к применяемым концентрациям. Препарат «Эко-СтиМ» — это продукт химического модифицирования растительного сырья, который наряду с традиционными преимуществами регуляторов роста ауксинового типа обладает низкой зависимостью от применяемой концентрации и пролонгированным действием.

Ранее в лабораторных условиях было показано, что препарат «Эко-СтиМ», полученный на основе древесины сосны, лузги подсолнечника, мякины овса, оказывает ростостимулирующее влияние на активность прорастания и на начальный рост первых двух листочков яровой мягкой. Установлено, что сухие препараты,

внесенные вместе с семенами, при обеспечении оптимальной влажности, оказывают наибольший ростостимулирующий эффект (20–66%) [Калюта и др., 2013].

Проведены испытания ростостимулирующей активности препарата «Эко-СтиМ», при выращивании томатов малообъемным способом на минеральной вате в тепличном хозяйстве ОАО «Индустриальный». В опытной теплице сбор томатов начался на 5 дней раньше контрольной. Общее количество томатов, собранных в опытной теплице превысило на 6%, по сравнению с контрольной [Базарнова и др., 2013].

Пример использования регулятора роста «Эко-Стим» (слева) при выращивании пшеницы по сравнению с контролем

На полях фермерского хозяйства ООО «Вектор» (с. Бураново, Алтайский край) на площади 1 га в 2014 г. были посеяны семена пшеницы сорта Омская-36, предварительно обработанные однократно суспензией препарата «Эко-СтиМ», полученного на основе древесины сосны. В дальнейшем за весь период вегетации опытное и контрольное поля ничем не обрабатывались. На опытном поле всхожесть составила 95–100%. Засоренность контрольного участка была значительно выше, чем у опытного. При уборке урожая на опытном поле привес составил более 20%, по сравнению с контрольным участком (рис.). В 2015 г. засеяно 70 га с использованием препарата «Эко-СтиМ». Предварительные данные по всхожести и основным параметрам роста растений показывают аналогичные результаты, что и в 2014 г.

Основные конкурентные преимущества препарата «Эко-СтиМ»:

- обладает высокой комплексной физиологической и антистрессовой активностью, фунгицидностью и доступной ценой;
- универсален как для полевых, так и для садово-огородных, садово-парковых и плодово-ягодных культур, а также тепличных хозяйств;
- имеет пролонгированное действие препарата на все стадии роста растений;
- ускоряет рост растений и созревания плодов на 10–15 дней;
- обеспечивает равномерное созревание плодов;
- повышает зимо- и засухоустойчивость растений, а также их стойкость к заболеваниям;
- способствует интенсивному развитию корневой системы;
- улучшает восприятие минеральных элементов питания за счет ионной формы;
- совместим при совместном применении с большинством минеральных удобрений и гербицидов;
- улучшает структуру почв (структурообразователь).

Таким образом, препарат «Эко-СтиМ» показал свою эффективность для выращивания самых разных культур независимо от площадей посевов и технологий возделывания. Рекомендуется для применения: фермерским и тепличным хозяйствам; садоводствам; станциям выращивания растений (плодово-овощные, садово-парковые, декоративные, цветочные и т.п.); центрам прикладной биотехнологии

(выращивание посадочного материала); в флористических центрах; при уходе за комнатными растениями в бытовых условиях.

Библиографический список

Базарнова Н.Г., Маркин В.И., Колосов П.В., Катраков И.Б., Калюта Е.В., Чепрасова М.Ю. Методы получения лигноуглеводных композиций из химически модифицированного растительного сырья // Российский химический журнал. 2011. Т. LV, №1. С. 4–9.

Базарнова Н.Г., Катраков И.Б., Маркин В.И., Верещагина Т.В., Жилина И.Н., Уткова Е.А., Борисова Г.И., Семенков А.А. Росторегулирующие полимерные композиции на основе химически модифицированного растительного сырья для выращивания овощных культур, производимых тепличными технологиями // Вестник алтайской науки. 2013. №1. С. 39–42.

Калюта Е.В., Мальцев М.И., Маркин В.И., Катраков И.Б., Базарнова Н.Г. Исследование влияния карбоксиметилированного растительного сырья на активность прорастания яровой мягкой пшеницы // Химия растительного сырья. 2013. №3. С. 249–253.

УДК 547:54-732:630*8:661.728:662.63:665

В.И. Маркин[1], С.В. Курланова[1], Т.Н. Ильичева[2], Н.Г. Базарнова[1], П.В. Колосов[1]

[1]Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

[2]Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово, Новосибирская область, Россия)

БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ СОРБЕНТЫ НЕФТИ

Изучена возможность использования карбоксиметилированной древесины сосны, полученной суспензионным способом, в качестве сорбента нефтепродуктов и бактерий нефтедеструкторов *Rhodococcus equi, Micrococcus flavus*. Показано, что карбоксиметилированные производные из древесины сосны с содержанием карбоксиметильных групп 10,2–12,5%, обладающие нефтеемкостью 6,1–6,5 г/г, превышают нефтеемкость исходной древесины сосны почти в 1,5 раза. Использование бактерий-нефтедеструкторов для регенерации сорбента делает возможным многократное использование сорбентов.

Ключевые слова: древесина, нефть, *Rhodococcus equi, Micrococcus flavus*, карбоксиметилирование, сорбенты.

V.I. Markin[1], S.V. Kurlanova[1], T.N. Il'icheva[2], N.G. Bazarnova[1], P.V. Kolosov[1]

[1]Altai State University (Barnaul, Russia)

[2]State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR (Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia)

BIODEGRADABLE OIL SORBENTS

The possibility of using carboxymethyl pine obtained slurry process as a sorbent of oil and the use of oil destructors bacteria *Rhodococcus equi*, *Micrococcus flavus*. It is shown that carboxymethylated derivatives of pine wood with the content of carboxymethyl groups 10,2–12,5% having oil capacity of 6,1–6,5 g/g, which is higher than the original pine oil intensity by almost 1,5 times. The use of bacteria-oil destructors for sorbent regeneration makes it possible to re-use of sorbents.

Key words: wood, oil, *Rhodococcus equi, Micrococcus flavus*, carboxymethylation, magnetic sorbents.

Проблема сбора и утилизации нефтяных разливов в настоящее время стоит достаточно остро. Ежегодно в мире происходит несколько десятков тысяч разливов нефти, при которых она попадает в водные акватории и почву. Причинами разливов являются аварии на нефтепроводах, танкерах, нефтеналивных хранилищах и в других случаях. Причем крупнейшие аварии приводят к выбросу нескольких миллионов тонн нефти. Количество подобных техногенных катастроф не уменьшается. Поэтому одной из актуальных задач является разработка эффективных сорбентов нефти, которые не только эффективно обеспечивали сбор нефтяных загрязнений, но и легко подвергались утилизации, а в идеальном случае повторной эксплуатации.

На кафедре органической химии Алтайского государственного университета разработаны способы карбоксиметилирования растительного сырья без предварительного разделения его на отдельные компоненты в полимерные композиции, обладающие комплексом полезных свойств [Маркин, 2010; Базарнова и др., 2011]. Было показано, что продукты карбоксиметилирования различных видов растительного сырья могут быть использованы в качестве сорбентов тяжелых металлов [Колосов и др., 2009].

Цель настоящей работы — получить магнитные сорбенты нефти на основе карбоксиметилированного растительного сырья, которые могут быть впоследствии переработаны с использованием бактерий *Rhodococcus equi, Micrococcus flavus.*

Для этого древесину сосны карбоксиметилировали суспензионным способом [Маркин и др., 1998; Галочкин и др., 1999] в различных условиях. Продукты карбоксиметилирования исследовали на нефтеемкость (табл. 1).

Таблица 1

Содержание карбоксиметильных групп (КМГ) и нефтеемкость (НЕ) продуктов карбоксиметилирования сосны, полученных в различных условиях

Температура щелочной обработки, °С	Продолжительность щелочной обработки, ч	Температура стадии карбоксиметилирования, °С	КМГ, % Δ ± 0,6	НЕ, г/г Δ ± 0,2
60	2	80	12,5	6,5
25	0,5	20	10,2	6,1
–	–	–	–	3,9*

Примечание: Продолжительность стадии карбоксиметилирования — 1 ч, * — исходная древесина сосны; НЕ — нефтеемкость, 1 г нефти / 1 г сорбента.

Как следует из данных, представленных в таблице 1, продукты карбоксиметилирования древесины сосны, полученные в различных условиях, обладают сравнимой нефтеемкостью. Причем образец, содержащий большее количество карбоксиметильных групп, имеет более высокую нефтеемкость. Сравнение продуктов карбоксиметилирования с исходной древесиной сосны показывает, что карбоксиметилирование приводит к увеличению нефтеемкости. Сорбцию нефти и нефтепродуктов древесиной (или ее компонентами), а также продуктами ее модифицирования следует рассматривать как поглощение пористым полимерным сорбентом сорбата (нефти и нефтепродуктов). Несмотря на то, что при карбоксиметилировании основных компонентов растительного сырья в состав продукта вводятся дополнительные полярные (карбоксиметильные) группировки, нефтеемкость образцов повышается. Можно сделать предположение, что наличие полярных групп приводит к увеличению свободного пространства в клеточной стенке за счет взаимного отталкивания между введенными карбоксиметильными группами и гидроксильными группами основных структурных компонентов растительного сырья, что способствует увеличению нефтеемкости материалов практически в 1,5 раза.

В таблице 2 приведены данные о нефтеемкости продуктов карбоксиметилирования древесины сосны, полученных в различных условиях. Для проверки способности бактерий-нефтедеструкторов (*Rhodococcus equi, Micrococcus flavus*) к разложению нефти использовали карбоксиметилированную древесину сосны, полученную в различных условиях (табл. 2), после сбора нефти. Сорбент наносили на культуры бактерий, высеянных на агаризованные чашки Петри, и оставляли на несколько дней.

Таблица 2

Условия получения и нефтеемкость (НЕ) карбоксиметилированной древесины сосны (КМД)

Стадия щелочной обработки (температура — 60 °С)	Стадия карбоксиметилирования		КМГ, % Δ ± 0,6	НЕ, г/г Δ ± 0,2
продолжительность, ч	температура, °С	продолжительность, ч		
2	80	1	13,6	4,7
1	40	0,5	14,6	4,9
0,5	60	0,5	15,7	5,6
1	60	1	22,1*	1,8
–	–		–**	3,9

Примечания: * карбоксиметилированная древесина, полученная в реакторе РВПЭ-0.2 (ООО «ЮВС», Обнинск); ** — исходная древесина сосны; НЕ — нефтеемкость, 1 г нефти / 1 г сорбента.

В результате работы были созданы препараты, состоящие из карбоксиметилированной древесины сосны и нанесенной на нее суспензии бактерий (*Rhodococcus equi, Micrococcus flavus*). Препарат был проверен на возможность нефтедеструкции. Было установлено, что нефтедеструкция происходит с разной скоростью в зависимости от слоя нефти. В среднем слой нефти за 3 дня уменьшался на 0,2 мм. В целом при создании соответствующих благоприятных условий для жизнедеятельности бактерий-нефтедеструкторов полученный сорбент может быть использован повторно.

Таким образом, получены карбоксиметилированные производные из древесины сосны с содержанием карбоксиметильных групп 10,2–12,5%, обладающие нефтеемкостью 6,1–6,5 г/г, что превышает нефтеемкость исходной древесины сосны почти в 1,5 раза.

Использование бактерий-нефтедеструкторов для регенерации сорбента делает возможным многократное использование сорбентов из карбоксиметилированной древесины сосны.

Библиографический список

Патент 2130947 (RU) Способ карбоксиметилирования лигноуглеводных материалов / А.И. Галочкин, В.И. Маркин, Н.Г. Базарнова, Н.В. Заставенко, Н.С. Крестьянникова. 1999.

Базарнова Н.Г., Маркин В.И., Колосов П.В., Катраков И.Б., Калюта Е.В., Чепрасова М.Ю. Методы получения лигноуглеводных композиций из химически модифицированного растительного сырья // Российский химический журнал. 2011. Т. LV, №1. С. 4–9.

Колосов П.В., Маркин В.И., Базарнова Н.Г., Юсупов В.Р., Генералова Е.Н. Свойства продуктов карбоксиметилирования, полученных из древесины сосны, модифицированной раствором формальдегида в щелочной среде // Химия растительного сырья. 2009. №3. С. 39–42.

Маркин В.И., Базарнова Н.Г., Галочкин А.И., Захарова В.В. Исследование реакции карбоксиметилирования древесины осины методом полного факторного эксперимента // Известия высших учебных заведений. Серия : Химия и химическая технология. 1998. Т. 41, №5. С. 108–111.

Маркин В.И. Карбоксиметилирование растительного сырья. Теория и практика. Барнаул, 2010. 167 с.

УДК 637.3

И.М. Мироненко, Д.А. Усатюк

Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия (Барнаул, Россия)

ПРОБЛЕМА ИМПОРТОЗАМЕЩЕНИЯ В СЫРОДЕЛЬНОЙ ОТРАСЛИ

Дан краткий обзор ситуации в современном российском сыроделии. Представлены разработки СибНИИС, направленные на решение проблемы импортозамещения.

Ключевые слова: сыр, импортозамещение, санкции, сыроделие, технологии, оборудование, новые разработки.

I.M. Mironenko, D.A. Usatyuk

FGBNU Siberian Research Institute of Cheesemaking (Barnaul, Russia)

IMPORT SUBSTITUTION PROBLEM IN THE CHEESE-MAKING INDUSTRY

A brief overview of the situation in contemporary Russian cheesemaking is given. Working out of SibNIIS aimed at solving the problem of import substitution is represented.

Key words: cheese, import substitution, sanctions, cheese-making, technology, equipment, new developments.

Почему проблема импортозамещения особо остро коснулась сыродельной отрасли молочной промышленности? Это объясняется комплексом причинно-следственных связей.

До введения санкций Россия экспортировала сыр из 38 стран мира. Всего из стран Евросоюза за первое полугодие 2014 г. в Россию ввезено около 109 тыс. т сыра.

После введения санкций в июле 2014 г. под запрет попали поставки из 29 стран, что привело к сокращению объема импорта сыров на 30%. Импортерами сыров в нашу страну остались: Беларусь, Сербия, Уругвай, Армения и Аргентина [Петрова, 2014, с. 4]. Российский потребитель лишился таких распространенных и любимых видов импортных сыров как пармезан, моцарелла, маскарпоне, фета, маасдам, рикотта, рокфор, камамбер и т.д.

Такой большой объем импортных поставок объяснялся тем, что сыродельная отрасль России характеризовалась низкой конкурентоспособностью относительно стран с развитым сыроделием. Основными причинами данной ситуации являлись высокие цены на молоко при его низком качестве, высокая затратность сбора и транспортировки молока-сырья на молочные предприятия. Сюда же следует отнести и тот факт, что в нашей стране практически отсутствовало фермерское сыроделие, которое способно мобильно заполнять внутренние региональные рынки.

Следует отметить, что после введения санкций ситуация в российском сыроделии резко оживилась. Появились предприятия, способные вырабатывать и пармезан, и моцареллу, и камамбер и т.д. Дело в том, что, несмотря на огромный ассортимент сыров в современном мире (более 5000 наименований), исторически сложившихся базовых технологий всего около 20. Поэтому специалистам высокого класса не составляет особой сложности перейти на выпуск сыров схожих технологий.

Что касается повышения качества молока, то здесь решение проблемы лежит на поверхности. Следует объединить в единые производственные комплексы получение и переработку молока. Российским сыроделам нужно развивать собственную сырьевую базу, использовать молоко со своих собственных ферм. Именно так осуществляется производство сыра в европейских странах с развитым сыроделием.

А чтобы поднять сыродельную отрасль на более высокий уровень, нужно направить ее развитие на удовлетворение внутреннего спроса. Значительно увеличить выпуск сыров на региональные рынки можно за счет развития фермерского сыроделия, которое после введения санкций стало развиваться высокими темпами.

Ведь умение варить сыр — это скорее искусство, чем наука. Поэтому, за исключением молочных заводов-гигантов с современным высокотехнологичным оборудованием, здесь большую роль играет человеческий фактор.

В сложившейся ситуации следует обратить внимание на класс мягких сыров, которые за рубежом, в частности в европейских странах, пользуются большой популярностью. У российского потребителя традиционно массовым спросом пользовались твердые (полутвердые) сыры: российский, советский, костромской, голландский, пошехонский и т.д.

С развитием фермерского сыроделия может пополниться ассортиментная линейка мягких сыров. Они обладают следующими преимуществами.

- короткий срок созревания либо его отсутствие, что ведет к сокращению холодильных мощностей и производственных площадей;
- увеличение выхода продукта за счет повышенной влаги в сырной массе;
- высокая рентабельность продукта и короткий срок окупаемости.

Именно за счет выпуска мягких сыров можно быстро увеличить объем вырабатываемых отечественных сыров. Есть при этом и задача: расширить потребительский спрос на эту группу сыров.

Но в нашем новом ГОСТ 32263-2013 «Сыры мягкие. Технические условия» ассортимент сыров этой группы чрезвычайно скуден. В нем, в частности, отсутствует группа сливочных мягких сыров, которую на примере маскарпоне, буко, фета, филадельфия, каймак успели полюбить российские потребители. Для отечественных потребителей сливочные сыры на текущий момент остаются элитным продуктом.

В СибНИИСе отработана технология получения двойного сливочного сыра путем термокислотной коагуляции и разработана техническая и технологическая документация «Сыр из сливок «Маскарпоне» с массовой долей жира в сухом веществе 80% (ТУ 9225-071-00419710-14)» [Мироненко, 2014, с. 16–17].

Изучив литературные данные по молочному жиру и ассортименту молочной продукции с повышенным его содержанием, сотрудниками ФГБНУ СибНИИС было принято решение разработать сливочный продукт наподобие масла, но с сохранением очень важного компонента молочного жира — мембраны молочной жировой глобулы (ММЖГ) [Ельчанинов, 2009, с. 192]. В ММЖГ содержатся минорные белки, фосфолипиды, цереброзиды, высокоплавкие глицериды, свободные жирные кислоты, стеролы, β-каротин и витамин А, ферменты, минеральные вещества. Например, фосфолипиды необходимы для построения костной и нервной тканей, а также мозгового вещества. Наиболее значимый из фосфолипидов — фосфатидилхолин (лецитин) участвует в создании сложных биологических структур ядра клеток. Кроме того, ММЖГ обеспечивает высокую стабильность молочной эмульсии, а также защищает жир от липолиза [Вышемирский, 2004, с. 55].

Полученный по технологии, предусматривающей сохранение ММЖГ, сливочный продукт получил название «ДоброМир» (ТУ 9232-066-00419710-13). В документации предусмотрена следующая ассортиментная линейка продукта (при заявленном сроке годности 25 суток):

- продукт сливочный высокожирный пастеризованный;
- продукт сливочный высокожирный пастеризованный соленый;
- продукт сливочный высокожирный пастеризованный сладкий;
- продукт сливочный высокожирный ароматизированный;
- продукт сливочный высокожирный пастеризованный фруктовый.

Российский потребитель также знаком с итальянским сыром моцарелла. Этот сыр выпускается в двух модификациях:

- сыр мягкий с повышенным содержанием влаги (в рассоле), потребляемый в свежем виде и используемый в основном при приготовлении салатов;
- сыр полутвердый с пониженным содержанием влаги (чаще в вакуумной упаковке без рассола), потребляемый также в свежем виде и используемый в кулинарии в основном в качестве начинки для пиццы, поэтому зачастую этот сыр называют «сыром для пиццы».

Проблема в получении сыра моцарелла на производстве состоит в правильном подборе специфического оборудования, конструкция которого направлена на получение головок сыра округлой формы различного размера. В России оборудование такого типа нет, его можно приобрести за рубежом.

Сотрудниками ФГБНУ СибНИИС разработана технология получения полутвердого аналога сыра моцарелла с пониженным содержанием влаги без использования дорогостоящего оборудования. Но данная технология подходит только для небольшого производства.

При выработке некоторых видов сыров коагуляция белков происходит в основном за счет осаждения казеина при помощи кислоты (кислотного осаждения казеина). Прямое подкисление молока применяется при производстве сыров без созревания в качестве альтернативы длительному развитию молочнокислых бактерий [Скотт и др., 2005, с. 171].

Следует отметить, что все последние разработки технологий свежих сыров, т.е. сыров, не предусматривающих процесса созревания, сотрудниками СибНИИСа ведутся с использованием органических кислот. Использование органических кислот позволяет вести четко контролируемый технологический процесс, а при правильном подборе температурно-механических параметров, можно получать сыры не хуже их аналогов, вырабатываемых при помощи микробиального сквашивания, а иногда и лучше.

За рубежом методом прямого подкисления вырабатывают такие мягкие сыры, как маскарпоне, рикотта, кесо бланко, коттедж, моцарелла и др. В качестве подкислителя используют лимонную, молочную, уксусную, фосфорную, виннокаменную и соляную кислоты.

В настоящее время в качестве подкисляющего агента в сыродельной отрасли широко используется глюконо-δ-лактон (ГДЛ). ГДЛ является многофункциональной пищевой добавкой (Е 575), используемой в качестве подкислителя, разрыхлителя, консерватора, стабилизатора окраски, хелатирующего реагента и т.д. [Мироненко и др., 2014, с.40–45]. ГДЛ, являясь гидролитически лабильным эфиром, гидролизуется до глюконовой кислоты, при этом скорость гидролиза увеличивается при повышении температуры и активной кислотности среды. Благодаря этому свойству глюконо-δ-лактон позволяет управляемо снижать pH пищевых продуктов. При использовании органических и неорганических кислот для подкисления молока перед сычужным свертыванием быстрое локальное закисление может вызвать частичное осаждение белков молока, что является нежелательным, в то время как глюконо-δ-лактон после растворения в молоке медленно гидролизуется в глюконовую кислоту. При этом кислотность молока нарастает постепенно, без осаждения белка, с образованием однородного сгустка. Благодаря отмеченной способности к медленному гидролизу до глюконовой кислоты и, как следствие, к постепенному контролируемому снижению pH молока, ГДЛ выступил в качестве альтернативы традиционному использованию молочнокислых микроорганизмов.

В лаборатории новых процессов и технологий СибНИИС разработаны два вида сыра, в технологии которых в качестве подкисляющего агента выступил ГДЛ: мяг-

кий термокислотный сыр Феникс из восстановленного молока (ТУ 9225-063-00419710-13) и мягкий термокислотный сыр Знать из нормализованного молока (ТУ 9225-065-00419710-13).

Говоря о импортозамещении, можно сказать, что указанные термокислотные сыры не хуже зарубежной рикотты, а по проведенным независимым дегустациям — лучше.

Почему упор сделан на мягкие сыры? В силу сложившихся на текущий момент экономических отношений появилась насущная необходимость переработки молока в условиях мелкофермерских хозяйств, специализированных модулей и заводов малой мощности (от 50 до 300 кг сыра в смену). Малые предприятия могут успешно конкурировать, предлагая молочные продукты более высокого качества и/или по меньшей цене, выпускать продукцию для особых групп потребителей.

Известные отечественные сыроделы А.В. и В.А. Оноприйко считают, что «решение проблемы получения экологически чистого молока и выработки из него чистых сыров целесообразно начинать с фермерских хозяйств и мини-заводов (сыроварен). Малая ферма (10–15 удойных коров) может легко обеспечить экологически чистое хозяйствование, получение биомолока и его переработку в экологически чистые молочные продукты. Однако для этого необходимы действенные экономические стимулы и существенная финансовая помощь государства фермерам, а также снабжение фермеров соответствующим оборудованием, инвентарем, приспособлениями и кадровым обеспечением (специальной подготовкой) [Оноприйко и др., 2004, с. 5]».

Библиографический список

Вышемирский Ф.А. Масло из коровьего молока и комбинированное. СПб., 2004. 720 с.

Ельчанинов В.В. Номенклатура и биохимические свойства белков мембраны молочной жировой глобулы. 1. Принципы номенклатуры белков мембраны молочной жировой глобулы // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока : сб. науч. тр. СибНИИС. Барнаул, 2009. С. 192–195.

Мироненко И.М., Яшкин А.И. Использование глюкона-δ-лактона как подкисляющего агента // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока : сб. науч. тр. СибНИИС. Барнаул, 2014. С. 40–45.

Мироненко И.М., Усатюк Д.А. Разработка отечественного аналога сыра «Маскарпоне» // Сыроделие и маслоделие. 2014. №5. С. 16–17.

Оноприйко А.В., Оноприйко В.А. Сыроделие на мини-заводах и специализированных модулях. СПб., 2004. 163 с.

Петрова М.Д. Работа с розничными сетями — новые возможности для российских производителей // Сыроделие и маслоделие. 2014. №6. С. 4–5.

Скотт Р., Робинсон Р., Уилби Р. Производство сыра: научные основы и технологии. СПб., 2005. 464 с.

УДК 608.3(005)

О.Н. Мусина, А.А. Майоров

Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия (Барнаул, Россия)

СОВРЕМЕННЫЕ ИННОВАЦИОННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЫРОДЕЛИИ: АНАЛИЗ МИРОВЫХ ТЕНДЕНЦИЙ ЗА ПОСЛЕДНИЕ 20 ЛЕТ

Проведен ретроспективный анализ патентных документов в области сыроделия за период с 1993 по 2014 г. Поиск проводился по патентным базам 18 стран, включая Россию. На основании анализа современных инновационных биотехнологий в сыроделии, отраженных в патентных документах этих стран, выявлены основные мировые тен-

денции. Лидирующими странами по инновациям в области сыроделия на данный момент являются США, Япония, Китай. Главной тенденцией является экспоненциальный рост числа патентных документов в области сыроделия в Китае.

Ключевые слова: биотехнология, сыроделие, инновация, патентный поиск, тенденции.

O. N. Musina, A. A. Mayorov
Siberian Research Institute of Cheese-Making (Barnaul, Russia)

MODERN INNOVATIVE BIOTECHNOLOGY IN CHEESE-MAKING: ANALYSIS OF GLOBAL TRENDS OVER THE PAST 20 YEARS

An analysis of patent documents in the field of cheese-making over the period from 1993 to 2014 was conducted. The search was performed on patent databases of 18 countries including Russia. Based on the analysis of modern innovative biotechnology in cheese making, as reflected in patent documents of these countries, the main global trends were identified. At the moment the leading countries for innovation in the cheese making are the USA, China and Japan. The main trend is the exponential growth in the number of cheese-making patent documents in China.

Key words: biotechnology, cheese making, innovation, patent search, global trends.

Патентные документы позволяют получить информацию, на основе которой можно понять состояние вопроса в интересующей области, выявить закономерности и тенденции развития, что позволит инноваторам выбрать перспективное направление исследований и уйти от неоправданного дублирования разработок. Ретроспективный поиск патентных документов был проведен на глубину 20 лет (с 1 января 1993 г. по 13 мая 2014 г.) по рубрикам Международной патентной классификации (МПК), охватывающим инновации в области биотехнологии сыроделия: МПК A23C 19/00, 19/02, 19/024, 19/028, 19/032, 19/04, 19/045, 19/05, 19/055, 19/06, 19/064, 19/068, 19/072, 19/076, 19/08, 19/082, 19/084, 19/086, 19/09, 19/093, 19/097, 19/10, 19/11, 19/14, 19/16. Для проведения анализа поиск проводили по 18 странам: Австралия, Австрия, Беларусь, Великобритания, Германия, Дания, Испания, Италия, Китай, Нидерланды, Новая Зеландия, Россия, США, Украина, Финляндия, Франция, Швейцария, Япония. Россия была выбрана как контрольный уровень. Методические особенности поиска и анализа патентной информации, принятые авторами, детально описаны ранее [Мусина, 2007, с. 8–16].

Поиск патентной информации проводился в базах данных Европейского патентного ведомства (worldwide.espacenet.com), по белорусским патентам — в базах Национального центра интеллектуальной собственности (www.belgospatent.org.by). Созданная Европейским патентным ведомством сеть патентной информации *esp@cenet* дает доступ к всемирной базе патентной информации и к патентным фондам различных стран и международных организаций. Российские патентные документы отыскивали с помощью информационно-поисковой системы Федерального института промышленной собственности (www1.fips.ru).

Был получен информационный массив для анализа. Далее определили, какие страны за последние 20 лет имеют наибольшее количество патентных документов в области сыроделия. Для этого общее количество таких патентных документов (по всем странам за 20 лет) было принято за 100% и высчитана доля каждой страны в этой сумме. Согласно полученным данным, наибольший вклад в инновации внесли отнюдь не державы с давними традициями сыроделия (Франция, Швейцария, Италия, Дания, Финляндия, Нидерланды, Великобритания). Также показывают скромные результаты Украина и Беларусь. Наибольшую долю дали США (18%), Япония (15%), Китай (9%), Австралия и Новая Зеландия (13 и 5% соответственно), Германия (9%), Россия (7%), Испания и Австрия (по 6%).

Несколько удивительно для неподготовленного читателя видеть в этом списке Японию и Китай. Вероятна следующая гипотеза для объяснения ситуации. Традиционные французские, итальянские, швейцарские сыры пользуются заслуженной славой и спросом, эти технологии уже известны и отработаны веками, что не требует в настоящее время проявления какой-либо патентной активности, достаточно использовать географические указания или наименования места происхождения товара. Технологии и рецептуры также можно охранять в режиме «ноу-хау», т.е. без получения патента. Большие объемы продукции выпускаются по лицензионному соглашению с патентообладателем (из другой страны).

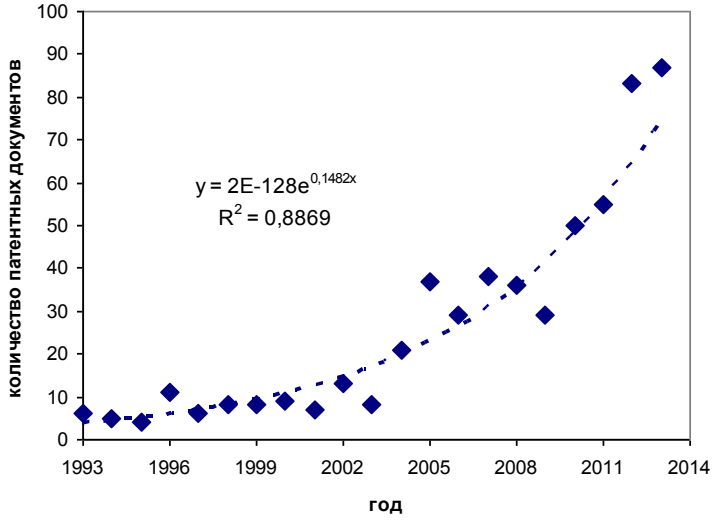
Можно, конечно, апеллировать к количеству потенциальных изобретателей/заявителей, привязав их к численности населения. На основе официальных данных ООН (Department of Economic and Social Affairs, United Nations, esa.un.org/unpd/wpp/Excel-Data/population.htm) по численности населения нами составлена таблица.

Сопоставление числа населения

Страна	Число населения, тыс. чел.	Число населения, в % от населения РФ
США	312247	217
Япония	127352	89
Китай	1359821	947
Австралия	22404	16
Германия	83017	58
Россия	143617	100
Испания	46182	32
Австрия	8401	6

Итак, из активных в сыродельной отрасли стран только США и Китай превосходят по численности населения Россию, а Япония приближается к ней. Все же остальные страны (Австралия, Германия, Испания, Австрия) намного меньше. Так, население Германии вдвое меньше нашего, но количество патентных документов, полученных за последние 20 лет в Германии, почти равно таковому в Российской Федерации.

На протяжении последних трех лет (2012–2014 гг.) Китай с огромным отрывом занимает первые места и демонстрирует явную тенденцию роста. Остановимся на китайском феномене более внимательно. На протяжении последних 20 лет Китай демонстрирует *экспоненциальный рост* патентной активности в области сыроделия (рис.).



Экспоненциальный рост патентной активности Китая

Для более подробного анализа этой тенденции были отобраны все патентные документы, полученные в Китае за 20 лет по «сыродельным» рубрикам МПК. Массив преобразован в таблицу с заголовками столбцов — Название патентного документа, Номер публикации, Дата публикации, Заявитель. В связи с большим объемом таблицы (более 20 страниц формата А4) здесь она не приводится. На основании анализа этой таблицы заявители были сгруппированы по национальной принадлежности.

Если судить только по национальной принадлежности заявителей, то пальма первенства по патентованию в Китае принадлежит фирмам из США (42 документа) и Японии (33), с небольшим отставанием идут Нидерланды (28) и Дания (22). Приблизительно одинаковым количеством патентных документов обладают заявители из Швейцарии, Новой Зеландии, Франции и Германии (по 10–16). Чаще всего заявителями являются следующие фирмы (в порядке убывания): «Kraft Foods Inc.» (США, www.kraftfoodsgroup.com), «DSM IP Assets B.V.» (Нидерланды), «Meiji Dairies Corporation» (Япония, www.meiji.co.jp), «Nestle S.A.» (Швейцария, www.nestle.com), «Danisco» (Дания, www.danisco.com) и «Fonterra» (Новая Зеландия, www.fonterra.com). Интересная тенденция: заявители из Нидерландов, Дании, Швейцарии, Франции и Новой Зеландии чаще предпочитают получать патенты в Китае, чем у себя на родине.

Собственно, суть китайского феномена хорошо раскрыта в интервью исполнительного директора Молочного союза Владимира Лабинова [Береговой, 2008, с. 4]. В 1999 г. в Китае был дан официальный старт новой всенародной кампании, цель которой — приучить всех детей страны ежедневно пить молоко, чтобы догнать и перегнать по росту и весу сверстников из других стран. Сегодня правительство КНР всячески поддерживает внутренний молочный рынок, субсидируя рост производства молочного сырья, дефицитного в Китае. Ежегодный прирост производства молока в стране составляет около 20%. И вот Поднебесная, еще 15 лет назад не знавшая вкуса молока, сегодня входит в тройку лидеров по его производству (США, Индия, Китай), оттеснив на четвертую позицию Россию. Китай стал не только производить и потреблять колоссальное количество молока, но и проявлять существенную активность в патентовании своих разработок. При этом около половины заявителей в патентных документах Китая — китайские организации. Из них можно выделить две основные группы. Первая — это китайские компании, являющиеся лидерами по производству и переработке молока, а вторая — образовательные учреждения. Кратко остановимся на заявителях из первой группы. Больше всего патентных документов принадлежит «Bright Dairy & Food Co., Ltd» («Bright Dairy», www.brightdairy.com). Эта компания является одним из крупнейших китайских производителей молочной продукции. Китайская компания «Mengniu Dairy Co., Ltd» и ее дочерние компании также являются одними из ведущих производителей молочных продуктов в Китае с «Mengniu» в качестве основного бренда. В большом количестве патентов заявителем является «Inner Mongolia Yili Industrial Group Co., Ltd» (www.yiligroup.com.cn). Из университетов Китая выделяются по количеству патентных документов следующие заявители (в порядке убывания): Тяньцзиньский научно-технический университет, Шанхайский университет науки и технологий, Цзянаньский университет, Китайский аграрный университет, Северо-Восточный сельскохозяйственный университет, Аграрный университет Ганьсу, Юньнаньский сельскохозяйственный университет.

Выводы

1. Главными ведущими странами по инновациям в области сыроделия на данный момент являются США, Китай и Япония. Рекомендуется при анализе уровня техники в сыроделии и состояния вопроса в целом обязательно в регламент поиска включать эти страны. В перечень ведущих стран также входят Австралия, Германия, Испания и Австрия.

2. Главной выявленной тенденцией является экспоненциальный рост числа патентных документов в области сыроделия в Китае. На современном этапе Китай является не только крупнейшим производителем и потребителем молочной продукции, но и ее разработчиком. Большая часть китайских заявителей — это крупные молокоперерабатывающие предприятия Китая, что может свидетельствовать о намерении внедрять запатентованные инновации в производство. Заявители из развитых стран Запада зачастую предпочитают получать патенты не у себя на родине, а в Китае.

Библиографический список

Береговой Д. «Молочная действительность» современной России // Российская газета. 2008. 23 сент. (№4756).

Мусина О.Н. Комбинированные продукты в отечественном сыроделии. Барнаул, 2007. 170 с.

УДК 338.43:638.17

Г.И. Ненашева[1], Н.С. Малыгина[2], Н.А. Рябчинская[1], М.В. Арндт[1]

[1] Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

[2] Институт водных и экологических проблем СО РАН (Барнаул, Россия)

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕЛИССОПАЛИНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕДОВ*

Мелиссопалинологический анализ — один из современных и перспективных методов исследования макробиоресурсов. Он позволяет интерпретировать пыльцевой состав медов и давать качественную и количественную их оценку. Натуральная продукция на основе природного сырья пчеловодства давно зарекомендовала себя на рынках нашей страны и зарубежья, но необходима верификация уникальности медов как стратегического биоресурса экономики Алтайского края в соответствии с национальными и международными нормативами.

***Ключевые слова**:* мелиссопалинология, пыльца, алтайский мед, пчеловодство.

G.I. Nenasheva[1], N.S. Malygina[2], N.A. Ryabchinskaya[1]. M.V. Arndt[1]

[1] Altai State University (Barnaul, Russia)

[2] Institute for Water and Environmental Problems (Barnaul, Russia)

METHODOLOGICAL ASPECTS MELISSOPALYNOLOGICAL ANALYSIS OF BEE HONEY

Melissopalinological analysis is a modern and perspective method for studying makrobioresursov. Melissopalinological analysis allows to interpret qualitative and quantitative composition of pollen in the honey. Natural products are based on natural raw bee has long established itself on the national and international market, but needed verification of the uniqueness of honey as a strategic bioresource economy of the Altai Territory in accordance with national and international regulations.

Key words: melissopalynology, pollen, Altai honey, beekeeping.

Палинологическая наука объединяет множество научных направлений. *Криминалистическая палинология* призвана помогать экспертам-криминалистам. *Палеопалинология* — наука о древней пыльце и современных ей палинофлорах, а значит, и о современных ей периодах в развитии Земли. Широко известно применение

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Алтайского края в рамках научного проекта 15-45-04422 «р_сибирь_а».

палинологического метода для решения проблем стратиграфии и палеогеографии. *Археологическая палинология* — наука, тесно связанная с археологией. Пыльца способствует установлению истины о том, как и чем жил человек много веков назад. *Экологическая палинология* — молодая наука, которая развивается как самостоятельное звено в цепи экологического мониторинга состояния окружающей среды в настоящем и в далеком прошлом нашей планеты. *Аэропалинология* (или медицинская палинология) занимается преимущественно изучением микрочастиц (в первую очередь пыльцы), находящихся в воздухе и способных вызывать у людей аллергические. *Мелиссопалинология* (или апипалинология) изучает пыльцу, извлеченную из меда и других пчелопродуктов. Морфологические признаки пыльцевых зерен помогают диагностировать видовую принадлежность пыльцы [Ненашева, 2013, с. 29].

Пыльца — это кладовая питательных и целебных веществ, богатейший естественный источник всех жизненно важных компонентов. Из нее выделено 240 компонентов, благотворно влияющих на организм человека Важнейшими из этих компонентов являются следующие: протеины, или белки, — от 7 до 30%, аминокислоты, углеводы (25–48%); витамины B_1, B_2, B_6, E, PP (никотиновая кислота), C (аскорбиновая кислота), пантотеновая кислота, биотин; рутин (до 17 мг%) — вещество, повышающее прочность и эластичность стенок капиллярных сосудов; антибиотики (больше всего их содержится в пыльце кукурузы, за ней следуют пыльца каштана, одуванчика, красного клевера); стимуляторы роста; минеральные вещества, необходимые для живых организмов [Шабаршов, 1989, с. 12].

Мед и пыльца Алтайского края — полезная натуральная продукция пчеловодства, давно зарекомендовавшая себя на рынках нашей страны и зарубежья, и может выступать как важнейший биоресурс экономики Алтайского края, например, для развития сельского туризма.

Мед — это переработанный пчелами нектар, в который неизбежно попадает пыльца, именно по наличию пыльцы, ее качественному и количественному составу определяют качество меда. Морфологические характеристики пыльцевых зерен помогают диагностировать видовую принадлежность пыльцы, так, только в одном сорте меда содержится пыльца нескольких десятков видов растений. Мелиссопалинологический анализ медов края позволяет установить его натуральность и эколого-геоботаническую привязку.

На региональном и глобальном уровнях мелиссопалинологический анализ медов регламентируется национальными и международными стандартами. В настоящее время в России действует Межгосударственный стандарт ГОСТ 19792-2001 «Мед натуральный», введенный в 2002 г. Согласно этому ГОСТу натуральный мед — это продукт переработки медоносными пчелами нектара или пади, анализируется по 13 органолептическим и физико-химическим показателям. Показатель «Наличие пыльцевых зерен» для всех видов меда, анализируемых согласно этому стандарту, кроме меда с белой акации и хлопчатника, не нормируется, для последних необходимо наличие пыльцевых зерен белой акации и хлопчатника соответственно. Стоит отметить, что настоящий стандарт с 1 января 2017 г. прекратит свое действие на территории Российской Федерации.

В январе 2013 г. Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии ввело в действие Национальный стандарт ГОСТ Р 54644-2011 «Мед натуральный», который распространяется на натуральный мед, производимый и/или реализуемый на территории Российской Федерации для употребления в пищу. В данном национальном стандарте, так же, как и в межгосударственном стандарте, натуральный мед подразделяют на цветочный, падевый и смешанный, при этом цветочный мед может быть монофлорным и полифлорным. Ботаническое про-

исхождение цветочного монофлорного меда согласно ГОСТу определяют по доминирующему медоносу (доминирующим медоносам). Одновременно с национальным стандартом для монофлорных медов введен в действие Межгосударственный стандарт ГОСТ 31766-2012 «Меды монофлорные», регламентирующий характеристики и значения показателей для гречишного, липового и подсолнечникового медов. Содержание доминирующих пыльцевых зерен должно быть не менее 30, 30 и 45% соответственно для вышеуказанных медов.

Вид меда согласному Национальному стандарту ГОСТ Р 54644-2011 должен определяться микроскопически по соотношению структурных элементов в соответствии с ГОСТ Р 53858. При этом отношение числа падевых элементов (ПЭ) к числу пыльцевых зерен (ПЗ) растений меда цветочного должно быть «менее 1», смешанного — «от 1 до 3» и падевого — «менее 1».

Начиная с 2014 г. на территории Российской Федерации введен в действие Межгосударственный стандарт ГОСТ 32168-2013 «Мед. Метод определения падевого меда», распространяющийся только на натуральный падевый мед и устанавливающий показатели его качества и методы их определения. Данный Межгосударственный стандарт в настоящее время регламентирует определение микроскопических показателей (количество ПЭ и ПЗ) в меду по ГОСТ 31769, а вид меда — в зависимости от соотношения микроскопических элементов, границы значений которых идентичны значениям, приведенным в Национальном стандарте — ГОСТ Р 54644-2011.

Отдельно стоит остановиться на стандартах, регламентирующих определение микроскопических показателей. Так, в начале 2015 г. в Российской Федерации отменен Национальный стандарт ГОСТ Р 52940-2008 «Мед. Метод определения частоты встречаемости пыльцевых зерен», но в настоящее время действует Межгосударственный стандарт ГОСТ 31769-2012 «Мед. Определение частоты встречаемости пыльцевых зерен». Данный Межгосударственный стандарт соответствует национальному немецкому стандарту DIN 10760:2002 «Анализ меда. Определение относительной частоты пыльцы» (DIN 10760:2002 «Analysis of honey — Determination of the relative frequency of pollen», NEQ) и подготовлен на основе применения ГОСТ Р 52940-2008.

Сущность метода определения частоты встречаемости пыльцевых зерен в меду состоит в следующем. Центрифугированием пыльцевые зерна концентрируют из раствора меда, затем готовят препарат для световой микроскопии с последующей идентификацией определенного количества пыльцевых зерен и вычислением процентной доли пыльцевых зерен отдельных видов от общего числа учтенных пыльцевых зерен. Таким образом, в Межгосударственном стандарте ГОСТ 31769-2012 эффективно используются основные методы мелиссопалинологии, позволяющие достаточно надежно определять основные микроскопические показатели меда, и, что немаловажно, устанавливать правой статус анализируемых образов, например их сертифицировать.

Предварительные (или рекогносцировочные) мелиссопалинологические исследование медов Алтайского края показали, что пыльцевой спектр представлен в основном семействами *Apiaceae, Fabaceae, Rosaceae, Asteraceae, Lamiaceae и Polygonaceae,* достаточно часто встречается *Ranunculaceae, Onagraceae, Caryophyllaceae, Plantaginaceae,* очень редко *Rubiaceae, Liliaceae, Geraniaceae, Valerianaceae, Hypericaceae* [Иванова и др., 2013, с. 35–38]. Проведение дальнейших детальных мелиссопалинологических исследований медов Алтайского края с соблюдением новых нормативных требований национальных и международных стандартов позволят не только надежно определить микроскопические показатели медов, но и на основе полученных результатов разработать критерии палинологической аутентичности медов Алтайского края в соответствии с мировыми стандартами.

Библиографический список

Ненашева Г.И. Аэропалинологический мониторинг аллергенных растений г. Барнаула : монография / Ин-т вод. и экол. проблем СО РАН. Новосибирск, 2013. 132 с.

Шабаршов И.А. В стране медоносных пчел : альбом. М., 1989. 216 с.

Иванова М.С., Ненашева Г.И., Куцев М.Г., Холодкова М.А. Разработка методов исследования алтайского меда для подтверждения его уникальных свойств с целью регистрации места происхождения товара как объекта интеллектуальной собственности // Вестник алтайской науки. 2013. №1. С. 35–38.

УДК 664.786:664.5

И.К. Нестеренко, Л.В. Анисимова

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

МУЧНАЯ КОМПОЗИТНАЯ СМЕСЬ-КОНЦЕНТРАТ С ПОВЫШЕННОЙ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ЯЧМЕННОЙ МУКИ И ПРЯНОСТЕЙ

Разработана мучная композитная смесь МКС-концентрат, в состав которой вошли ячменная мука, мука пшеничная первого сорта, пряности (куркума, имбирь) и хлебопекарный улучшитель — сухая пшеничная клейковина. Ячменную муку получали по технологии, включающей гидротермическую обработку с увлажнением зерна под вакуумом и отволаживанием, шелушение зерна и последующее измельчение шелушеного ядра. Использование ячменной муки и пряностей позволило повысить пищевую ценность мучной композитной смеси вследствие обогащения витаминами, макро- и микроэлементами, β-глюканом, эфирными маслами и другими биологически активными веществами, содержащимися в указанных компонентах. Предлагается использовать МКС-концентрат для приготовления хлебопекарной смеси на основе пшеничной муки с заменой муки пшеничной первого сорта на МКС-концентрат в размере 15%.

Ключевые слова: мучная композитная смесь, МКС-концентрат, ячменная мука, гидротермическая обработка, куркума, имбирь, сухая пшеничная клейковина, хлебопекарная смесь.

I.K. Nesterenko, L.V. Anisimova

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

FLOUR COMPOSITE MIXTURE IS A CONCENTRATE WITH A HIGH NUTRITIONAL VALUE BASED ON BARLEY FLOUR AND SPICES

Flour composite mixture FCM-concentrate, which includes barley flour, wheat flour, spices (turmeric, ginger) and bakery improvers — dry wheat gluten was designed. Barley flour was obtained by technology, which includes hydrothermal treatment with moistening under vacuum and tempering, grain dehulling and further grinding hulled kernels. Using the barley flour and spices allowed to increase the nutritional value of the composite flour mixture because of enrichment with vitamins, macro- and microelements, β-glucan, essential oils and other biologically active substances contained in these components. It is proposed to use the FCM-concentrate for the bakery mixtures based on the wheat flour with the replacement 1 sort wheat flour on the FCM-concentrate at a rate of 15%.

Key words: flour composite mixture, FCM-concentrate, barley flour, hydrothermal treatment, turmeric, ginger, dry wheat gluten, bakery mixture.

В условиях снижения доходов населения достаточно остро встает проблема обеспечения полноценного питания за счет базовых и социально значимых продуктов, таких как хлеб и хлебобулочные изделия. Вместе с тем, по словам финансовых

аналитиков, спрос в этом сегменте незначительно, но стабильно снижается. Один из вариантов решения сложившейся проблемы — использование различных хлебопекарных смесей. Большое разнообразие компонентов, входящих в состав МКС, позволяет значительно повысить пищевую ценность готовой продукции и существенно расширить ее ассортимент, вызывая заинтересованность потребителя. Одним из направлений обогащения хлебобулочных изделий физиологически ценными компонентами и придания им дополнительных полезных свойств является добавление к пшеничной муке муки из крупяных культур [Урлапова, 2009, с. 40].

Цель данных исследований — создание МКС-концентрата с повышенной пищевой ценностью на основе крупяных и других натуральных продуктов растительного происхождения.

Достоинство разрабатываемой мучной композитной смеси-концентрата заключается в возможности производить ее на крупяных и мукомольных предприятиях с последующей реализацией как на крупные хлебозаводы, так и в небольшие пекарни. Хлебопекарная смесь, предназначенная непосредственно для выпечки изделия, готовится на хлебозаводе (в пекарне) путем замены части пшеничной муки МКС-концентратом.

Для повышения пищевой ценности хлеба в состав МКС-концентрата взамен муки пшеничной первого сорта ввели муку ячменную и пряности — куркуму и имбирь. В качестве добавки, улучшающей хлебопекарные свойства смеси, была выбрана сухая пшеничная клейковина (СПК).

Ячменная мука известна своими полезными свойствами, благодаря входящему в ее состав β-глюкану, снижающему уровень холестерина в крови, а также различным минеральным веществам и витаминам. В исследованиях ячменную муку вырабатывали по собственной технологии, предусматривающей гидротермическую обработку (ГТО) зерна перед шелушением. Используемый способ ГТО, включающий увлажнение зерна под вакуумом и его последующее отволаживание, позволяет повысить эффективность шелушения ячменя при наиболее полном сохранении нативных свойств вырабатываемой из шелушеного ядра муки. Проведенные ранее исследования [Нестеренко, 2015, с. 322–327] показали, что добавление ячменной муки в смесь с пшеничной мукой ухудшает ее хлебопекарные свойства, а также органолептические показатели готовой продукции. В этих же исследованиях было определено количество ячменной муки, которое можно вводить в мучную смесь взамен пшеничной муки первого сорта.

Для улучшения органолептических свойств готовой продукции и повышения ее пищевой ценности в МКС добавляли пряности: куркуму и имбирь. Куркума содержит в своем составе витамины, макро- и микроэлементы, эфирные масла и составляющие их сабинен, борнеол, цингиберен, терпеновые спирты, фелландрен, куркумин и ряд других компонентов. Особое место в этом перечне занимает куркумин, являющийся природным красителем желтого цвета [Дудченко, 1989, с. 126–127]. Добавление куркумы в МКС позволяет убрать сероватый оттенок мякиша хлеба, появляющийся при введении в хлебопекарную смесь ячменной муки. Имбирь, как и куркума, относится к семейству имбирных [Дудченко, 1989, с. 93–95]. В состав данной пряности также входят витамины и эфирные масла, основным компонентом которых является зингиберен. Обе пряности являются хорошими антиоксидантами, укрепляют иммунитет и прекрасно дополняют друг друга, способствуя улучшению пищеварения. Количество куркумы и имбиря в МКС-концентрате, обеспечивающее улучшение органолептических свойств готовой продукции, было подобрано в предварительно проведенных экспериментах.

Все вышеперечисленные компоненты (ячменная мука, куркума, имбирь) ухудшают хлебопекарные свойства мучной смеси, поэтому была поставлена задача определить необходимое количество сухой пшеничной клейковины, используемой в качестве хлебопекарного улучшителя, которое следует ввести в состав МКС-концентрата для получения хлеба хорошего качества.

Сухую пшеничную клейковину добавляли в размере от 2 до 12% от массы МКС-концентрата взамен пшеничной муки первого сорта. Для приготовления теста использовали хлебопекарную смесь, состоящую из 85% муки пшеничной первого сорта и 15% МКС-концентрата. В состав теста также входило расчетное количество дрожжей хлебопекарных, соли и воды. Тесто готовили безопарным способом. Оценивали физико-химические и органолептические показатели качества формового хлеба. Объем хлеба определяли по ГОСТ 27669-88, пористость — по ГОСТ 5669-96, кислотность — по ГОСТ 5670-96, влажность — по ГОСТ 21094-75. При оценке качества хлеб с добавлением МКС-концентрата сравнивали с контролем (хлебом из пшеничной муки первого сорта).

Анализ полученных результатов показал, что изменение содержания сухой пшеничной клейковины в МКС-концентрате оказывает влияние только на пористость и удельный объем хлеба. Такие же физико-химические показатели как кислотность и влажность для всех образцов хлеба из хлебопекарной смеси с добавлением МКС-концентрата, независимо от содержания в МКС сухой пшеничной клейковины, практически оставались на одном уровне. Как видно из графиков (рис. 1 и 2), с увеличением доли СПК в МКС-концентрате растут удельный объем и пористость хлеба. Это можно объяснить изменением клейковинного комплекса как МКС-концентрата, так и в целом хлебопекарной смеси, что подтверждено дополнительными исследованиями: при увеличении содержания в МКС-концентрате сухой пшеничной клейковины возрастает количество сырой клейковины в хлебопекарной смеси, при этом клейковина несколько расслабляется (с 50 до 65–70 ед. прибора ИДК). При добавлении СПК в МКС-концентрат в размере 8% пористость и удельный объем хлеба становятся практически равными значениям этих показателей для хлеба из муки пшеничной первого сорта, который был принят за контроль (удельный объем 3,1 $см^3/г$, пористость 83,4%). Поэтому дальнейшее увеличение содержания СПК в МКС-концентрате нецелесообразно.

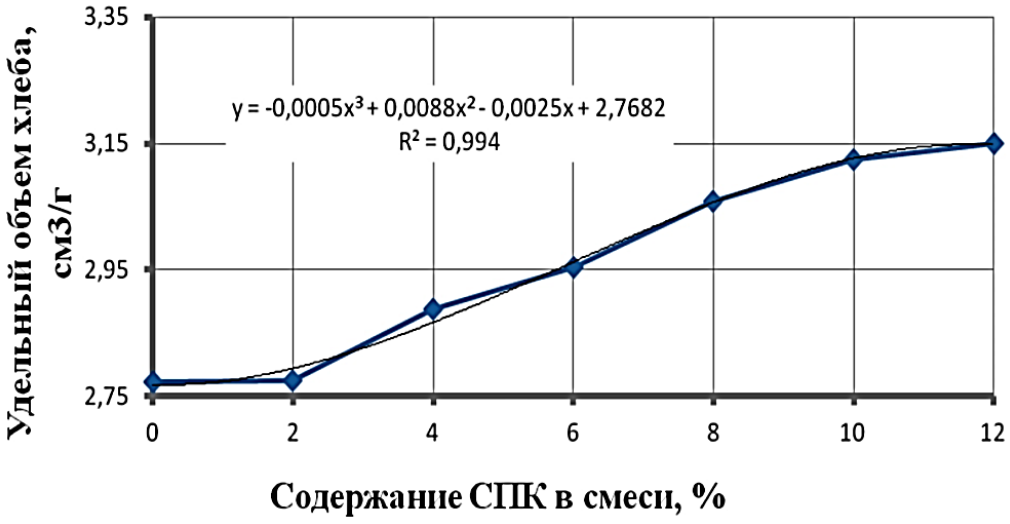


Рис. 1. Влияние содержания сухой пшеничной клейковины в МКС-концентрате на удельный объем хлеба

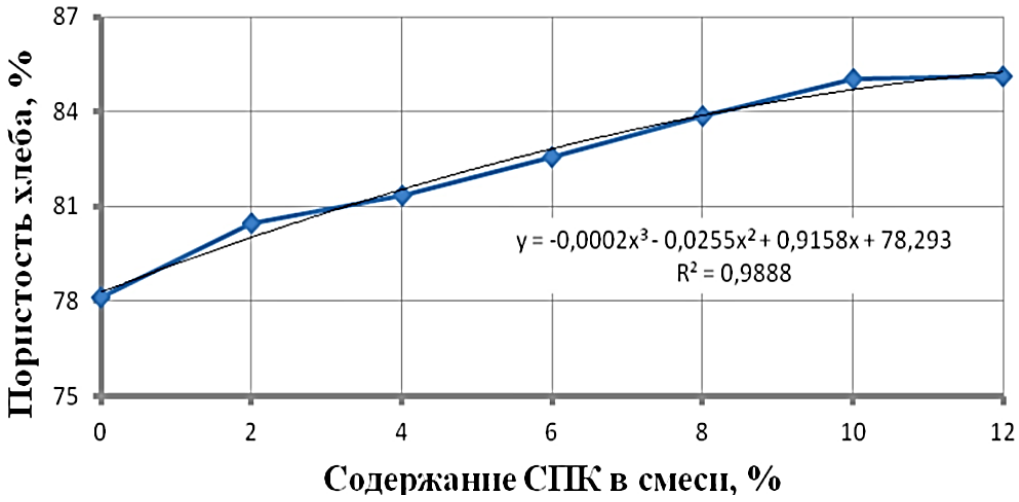


Рис. 2. Влияние содержания сухой пшеничной клейковины в МКС-концентрате на пористость хлеба

По органолептическим показателям хлеб с добавлением в МКС-концентрат от 2 до 8% сухой пшеничной клейковины имел хорошую эластичность мякиша, гладкую светло-коричневую корочку, правильную форму. При внесении в МКС-концентрат от 10 до 12% СПК взамен муки пшеничной первого сорта хлеб также имел эластичный мякиш и светло-коричневую корочку, однако на ее поверхности появились бугры и подрывы. По сравнению с контролем все образцы хлеба из хлебопекарной смеси с МКС-концентратом приобрели легкий аромат куркумы и имбиря, слабый привкус пряностей. Цвет мякиша хлеба из хлебопекарной смеси можно характеризовать как белый с желтовато-сероватым оттенком.

Таким образом, внесение в мучную композитную смесь-концентрат 8% сухой пшеничной клейковины позволило получить хлеб с хорошими органолептическими свойствами, по физико-химическим показателям не уступающий хлебу из пшеничной муки первого сорта.

По результатам проведенных исследований можно рекомендовать следующий состав МКС-концентрата:

- мука ячменная — 66,7%;
- мука пшеничная первого сорта — 16,5%;
- куркума — 4,4%;
- имбирь — 4,4%;
- сухая пшеничная клейковина — 8%.

Предлагается использовать МКС-концентрат для приготовления хлебопекарной смеси на основе пшеничной муки с заменой муки пшеничной первого сорта на МКС-концентрат в размере 15%.

Библиографический список

Дудченко Л.Г., Козьяков А.С., Кривенко В.В. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения : справочник / отв. ред. К.М. Сытник. Киев, 1989. 304 с.

Нестеренко И.К., Анисимова Л.В. Исследование хлебопекарных свойств смеси из пшеничной муки первого сорта и ячменной муки // Вестник алтайской науки. 2015. №1. С. 322–327.

Урлапова И., Бобков В. Мука из крупяных культур для обогащения пшеничной муки // Хлебопродукты. 2009. №11. С. 40–41.

УДК 631.145:338.27

С.В. Новоселов, Е.А. Машенская, М.Н. Вишняк

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ И ВЫБОРА КАНАЛОВ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НОВАЦИОННОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОДУКТА ПИТАНИЯ

Разработаны критерии для оценки и выбора каналов распределения новационного функционального продукта питания, методика и алгоритмы расчета на базе теории операций и математической логики.

Ключевые слова: методика, оценка, выбор, каналы, распределения, новационный, функциональный, продукт питания, критерии.

S.V. Novoselov, E.A. Mashenskaya, M.N. Vishnyak

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

TECHNIQUE OF THE ASSESSMENT AND CHOICE OF CHANNELS DISTRIBUTIONS OF THE INNOVATIVE FUNCTIONAL FOOD PRODUCT

The criteria for evaluation and selection of distribution channels, innovative functional food, methods and algorithms for the calculation on the basis of the theory of operations and mathematical logic.

Key words: methodology, evaluation, selection, channels of distribution, novation, functional food, criteria.

Государство способствует формированию инновационной экономики [Кучуков, 2009] в целом. Региональные власти, обращая внимание на полноту переработки сельскохозяйственной продукции на местах до конечного продукта потребления, стремится к созданию условий инновационно-кластерного развития агропромышленного комплекса в регионах [Кундиус, Полтарыхин, 2010]. Наличие систем управления инновационным развитием в региональных условиях создает предпосылки успешной деятельности [Максименко, Новоселов, 2009].

Товародвижение определяется [Закшевская, Гончаров, 1999] как деятельность по планированию, претворению в жизнь и контролю за физическим перемещением материалов (сырья) и готовых изделий от мест их происхождения до мест использования с целью удовлетворения нужд потребителей и выгодой для производителя.

Согласно концепции маркетинга на выбор каналов распределения, по определению Е.В. Закшевской и коллектива авторов [Закшевская, Гончаров, 1999], влияют четыре группы факторов:

- факторы, характеризующие потребности и удобства конечного покупателя;
- факторы, характеризующие само предприятие;
- факторы, характеризующие продаваемый товар;
- факторы, характеризующие функционирование каналов распределения.

В результате анализа научно-технической литературы, касающейся вопросов риска, оценки и выбора каналов распределения новационных функциональных продуктов питания, было выявлено четыре группы факторов, характеризующих продвижение товара.

Нами были сформированы следующие группы критериев:

- потребности, удобности и возможности приобретения новационного продукта питания;

– производственные критерии, характеризующие предприятие, производящее новационный функциональный продукт питания;
– характеризующие новационный продукт как товар;
– характеризующие функционирование каналов распределения новационного продукта питания.

Таким образом, при оценке каналов распределения новационного функционального продукта питания по каналам товародвижения, определяющими явились следующие критерии:

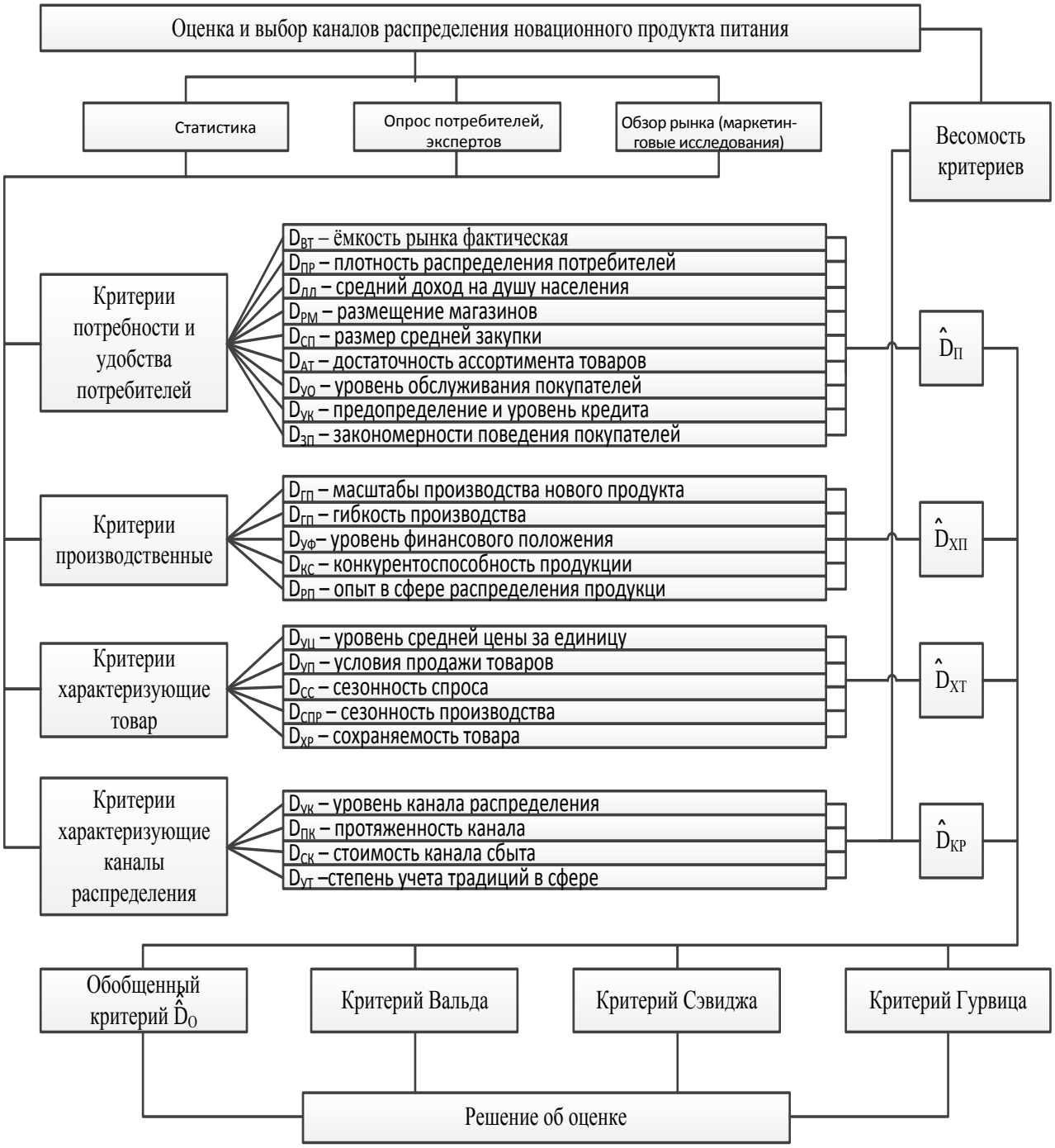
• По группам критериев потребности и удобства приобретения:
$D_{ЕР}$ — критерий, характеризующий емкость рынка;
$D_{ПР}$ — критерий относительной плотности населении;
$D_{ДД}$ — критерий, характеризующий средний доход на душу населения;
$D_{РМ}$ — критерий, характеризующий плотность размещения торговой сети;
$D_{СП}$ — критерий, характеризующий размер средней покупки;
$D_{АТ}$ — критерий достаточности ассортимента продуктов;
$D_{УО}$ — критерий уровня обслуживания покупателей;
$D_{УК}$ — критерий, характеризующий средний уровень продукта;
$D_{ЗП}$ — критерий закономерности поведения покупателей;
$\hat{D}_{П}$ — обобщенный приведенный критерий по группе критериев потребности и удобства приобретения.

• По группе производственных критериев:
$D_{ПМ}$ — критерий масштабов производства;
$D_{ГП}$ — критерий гибкости производства;
$D_{УФ}$ — критерий уровня финансового положения;
$D_{КС}$ — критерий уровня конкурентоспособности продукции;
$D_{РП}$ — критерий опытности в сфере распределения продукции;
$\hat{D}_{ХП}$ — обобщенный приведенный критерий по группе производственных критериев.

• По группе критериев, характеризующих продукт как товар:
$D_{УЦ}$ — критерий уровня средней цены за единицу;
$D_{УП}$ — критерий уровня условий продажи продукта питания;
$D_{СС}$ — критерий уровня сезонности спроса на продукт питания;
$D_{СПР}$ — критерий уровня сезонности производства продукта питания;
$D_{ХП}$ — критерий уровня сохраняемости товара;
$\hat{D}_{ХМ}$ — обобщенный приведенный критерий по группе критериев, характеризующих продукт как товар.

• По группе критериев, характеризующих каналы распределения:
$D_{УК}$ — критерий уровня канала распределения;
$D_{ПК}$ — критерий протяженности канала распределения;
$D_{СК}$ — критерий уровня стоимости канала сбыта;
$D_{УК}$ — критерий учета традиций в среде распределения;
$\hat{D}_{КР}$ — обобщенный приведенный критерий по группе критериев, характеризующих каналы распределения.

Структура оценки и выбора каналов распределения новационного продукта питания проведена на рисунке.



Структура оценки и выбора каналов распределения новационного продукта питания

Обобщенный приведенный критерий оценки и выбора каналов распределения по всем группам имеет вид:

$$\hat{\hat{D}}_O = \sqrt[s]{\hat{D}_П \cdot \hat{D}_{ХП} \cdot \hat{D}_{ХМ} \cdot \hat{D}_{КР}}\ , \qquad (1)$$

где $\hat{D}_П; \hat{D}_{ХП}; \hat{D}_{ХМ}; \hat{D}_{КР}$ — обобщенные приведенные значения критериев по группам критериев; S — число групп критериев.

Обобщенный приведенный критерий потребности и удобности приобретения описан в виде:

$$\hat{D}_{П} = \sqrt[e]{R_{ЕР} \cdot K_{ЕР} \cdot R_{ПР} \cdot K_{ПР} \cdot R_{ДД} \cdot K_{ДД} \cdot R_{РМ} \cdot K_{РМ} \cdot R_{СП} \cdot K_{СП} \cdot R_{ДТ} \cdot K_{ДТ} \cdot R_{УО} \cdot K_{УО} \cdot R_{УК} \cdot K_{УК} \cdot R_{ЗП} \cdot K_{ЗП}}, \quad (2)$$

где R_E — ранг от наиболее значимых до менее значимых (от Е до 1); K_E — весовое значение для каждого критерия *Е*-й группы (от положительного свыше 0 до 1); E — число критериев в *Е*-й группе.

Обобщенный приведенный производственный критерий представлен в виде:

$$\hat{D}_{ХП} = \sqrt[\alpha]{R_{ПМ} \cdot K_{ПМ} \cdot R_{ГП} \cdot K_{ГП} \cdot R_{УФ} \cdot K_{УФ} \cdot R_{КС} \cdot K_{КС} \cdot R_{РП} \cdot K_{РП}}, \quad (3)$$

где R_α — ранг от наиболее значимых до менее значимых (от α до 1); K_α — весовое значение для каждого критерия α-й группы (от положительного свыше 0 до 1); α — число критериев в α-й группе.

Обобщенный приведенный критерий по группе критериев, характеризующих новый продукт питания:

$$\hat{D}_{ХМ} = \sqrt[\beta]{R_{УЦ} \cdot K_{УЦ} \cdot R_{УП} \cdot K_{УП} \cdot R_{СС} \cdot K_{СС} \cdot R_{СПР} \cdot K_{СПР} \cdot R_{ХР} \cdot K_{ХР}}, \quad (4)$$

где R_β — ранг от наиболее значимых до менее значимых (от β до 1); K_β — весовое значение для каждого критерия β-й группы (от положительного свыше 0 до 1); β — число критериев в β-й группе.

Обобщенный приведенный критерий, характеризующий распространение продукта питания, имеет вид:

$$\hat{D}_{КР} = \sqrt[\gamma]{R_{УК} \cdot K_{УК} \cdot R_{ПК} \cdot K_{ПК} \cdot R_{СК} \cdot K_{СК} \cdot R_{УТ} \cdot K_{УТ}}, \quad (5)$$

где R_γ — ранг от наиболее значимых до менее значимых (от γ до 1); K_γ — весовое значение для каждого критерия γ-й группы (от положительного свыше 0 до 1); γ — число критериев в γ-й группе.

Таким образом, при создании методики оценки и выбора каналов распределения функционального продукта питания, сочетающего новацию, выполнены все необходимые требования, включающие всесторонность рассмотрения, критичность и чувствительность к потребности и удобству потребителей, объективности, доказательности, дифференцируемости, соблюдения выбора критериев.

Данная методика апробирована и показала свою эффективность.

Библиографический список

Кучуков Р. Роль государства в формировании инновационной экономики // Экономист. 2009. №6. С. 3–13.

Кундиус В.А., Полтарыхин А.Л. Инновационно-кластерная политика развития регионального АПК // Вестник АГАУ. 2010. №5 (67). С. 107–110.

Максименко А.А., Новоселов С.В. Основы аналитической системы управления инновационным развитием научно-образовательных организаций и предприятий в региональных условиях Алтая // Ползуновский альманах. 2009. Т. 1, №3. С. 137–142.

Закшевская Е.В., Гончаров С.В. Агромаркетинг. Воронеж, 1999. 233 с.

УДК 637.1:613.2

Н.И. Одегов, Р.В. Дорофеев, В.В. Ткаченко

Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия (Барнаул, Россия)

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОВОГО ПУЛА СЫРОДЕЛЬНЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ С ЦЕЛЬЮ РАЗРАБОТКИ ЭФФЕКТИВНЫХ МЕТОДОВ ИХ ФАГОМОНИТОРИНГА

Осуществлено проведение фагомониторинга сыродельных предприятий с целью установления параметров их перманентной фаговой контаминации и разработки методов определения фактической фаготолерантности применяемых бактериальных препаратов. Приведены результаты изучения фагосодержания проб технологических субстратов (смесь для выработки сыра до внесения ингредиентов и подсырная сыворотка в конце варки), отобранных на двух сыродельных предприятиях Алтайского края. Выявлены высокий контаминирующий фаговый фон исследованных многоштаммовых фагосодержащих субстратов обоих предприятий и значительная дифференциация интегральной литической активности их фаговых ассоциаций (спектра/уровня) относительно проб и выборок тестированных индикаторных культур.

Ключевые слова: заквасочные культуры, лактококки, бактериофаги, фаговые ассоциации, индекс литической активности.

N.I. Odegov, R.V. Dorofeyev, V.V. Tkachenko

Siberian research Institute of cheesemaking (Barnaul, Russia)

RESEARCH OF INTEGRAL LITIC ACTIVITY OF PHAGE POOL OF CHEESE-MAKING ENTERPRISES WITH THE PURPOSE OF DEVELOPMENT OF EFFECTIVE METHODS THEM PHAGE MONITORING

The aim of this work was to conduct phage monitoring of cheesemaking enterprises for the purpose of establishing the parameters of their permanent phage contamination and to develop methods of determining the actual phage tolerance of bacterial preparations used. Results of study of phage content in samples of technological substrates (mixture to produce cheese before inserting ingredients and whey at the end of cooking), taken from two cheese Altai enterprises are given. The high contaminating phage background of multistrain phage containing substrates at both enterpises and significant differentiation of the integral lytic activity of their phage associations (spectrum/level) against tested indicator cultures are revealed.

Key words: starter culture, lactococcal, bacteriophages, phage association, the index of litic activity.

Особенности сыроделия как микробиологического производства (нестерильное сырье, контакт продукта с внешней средой во время выработки, ее длительность, наличие аэрозолей производственных субстратов и др.) практически гарантируют экзогенную контаминацию сырной массы бактериофагами, в силу чего сохраняется постоянно высокая вероятность фаголизиса клеток бактериальных заквасок [Сорокина, 2013, с. 32–35; Гудков, 2004].

Кроме того, высокая вариабельность бактериофагов предопределяет возможность достаточно быстрой смены их вирулентности и накопления на производстве новых высоковирулентных штаммов фагов [Ганина, 2005, с. 10].

Естественно, что динамика популяционных соотношений между бактериофагами, фагочувствительными и фагоустойчивыми клетками/культурами на моло-

коперерабатывающих предприятиях детерминируется биологическими законами применительно к микробиоценозу предприятия [Deveau, 2006, p. 338–346].

В силу этого современный уровень производства препаратов не обеспечивает требуемую адекватность проводимого фагового скрининга. Поэтому их применение в условиях фаговой обстановки конкретных предприятий всегда сопряжено с высокой неопределенностью (непредсказуемостью) уровня фактической фагорезистентности препаратов.

Первоочередной задачей настоящих исследований являлась отработка методов и проведение фагомониторинга (изучение фаговой обстановки) сыродельных предприятий с целью детализации параметров их фаговой инфекции (уровень, спектр, динамика). Знание этих показателей позволит разработать методы прогнозирования фаготолерантности бакпрепаратов в условиях перманентной фаговой инфекции конкретных предприятий.

Материал и методы исследования. Объектами исследований служили нативные технологические субстраты (смесь из ванны и сыворотка), отобранные на двух сыродельных предприятиях Алтайского края (условные индексы «Б» и «С») в весенне-осенние периоды 2013–2014 гг.

Для работы с бактериофагами, специфичными культурам мезофильных лактококков, применяли известные методы, основанные на детекции факта фаголизиса клеток индикаторной культуры в агаризованной питательной среде.

Результаты исследований и обсуждение. Отобранные субстраты, позиционируемые как многоштаммовые фагосодержащие субстраты (МФС), исследовали путем скрининга 142 коллекционных культур мезофильных лактококков по отношению к фаговым ассоциациям (ФА), предположительно содержащимся в данных субстратах. Нумерация МФС включала: индекс предприятия, порядковый номер и дату отбора (число/месяц/год). При совпадении даты отбора приводился номер выработки.

Как свидетельствуют данные для обоих предприятий, выявленные в опытах спектры литического действия (лизотип) и уровень интегральной литической активности изменялись в рядах тестированных ФА и выборок культур в значительных пределах. В частности, выявленная для предприятия «С» величина индекса литической активности (ИЛА) ожидаемо варьировала (в общем диапазоне от 0,02 до 0,26) в зависимости от МФС, вида и представительности выборки культур лактококков. Так, ИЛА ФАС1 27/04/13/вар. 5; ФАС2 27/04/13/вар. 7 и ФАС4 27/05/13, определенные по отношению к наиболее представительной выборке *Lc. Lactis,* составили 0,26; 0,23 и 0,19 соответственно. Этот же показатель для трех исследованных ФА относительно выборки *Lc. diacetylactis* был намного ниже и составил 0,04. Это свидетельствует о несколько большей интегральной литической активности тестированных ФА предприятия «С» по отношению к коллекционным культурам вида *Lc. lactis*.

Для предприятия «Б» ИЛА в ряду ФАБ2 13/05/14; ФАБ4 15/07/14 и ФАБ6 16/09/14, определенный по отношению к «суммарной» выборке индикаторных культур, находился в диапазоне от 0,06 до 0,28. Практически такая же вариабельность этого индекса соответствовала и выборке *Lc. lactis*. Диапазон же варьирования ИЛА этих же ФА по отношению к культурам *Lc. diacetylactis* был значительно больше и составил от 0,04 до 0,35.

Характер гистограмм, представленных на рисунках 1 и 2, свидетельствует о различиях динамики ИЛА фагового пула тестированных ФА обоих предприятий. Причем его большая изменчивость характерна для предприятия «С» по отношению к примененным выборкам индикаторных культур. В частности, эти данные свидетельствуют о незначительной для каждой выборки вариабельности ИЛА в ряду исследованных ФА и, напротив, о ее большей изменчивости в ряду выборок для каждой ФА.

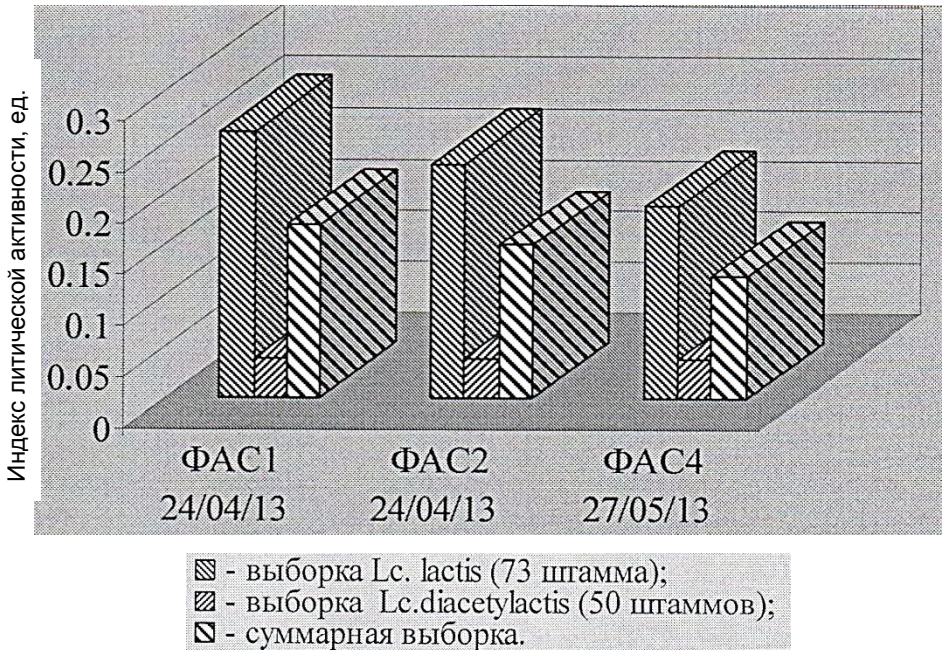


Рис. 1. Интегральная литическая активность фаговых ассоциаций предприятия «С»

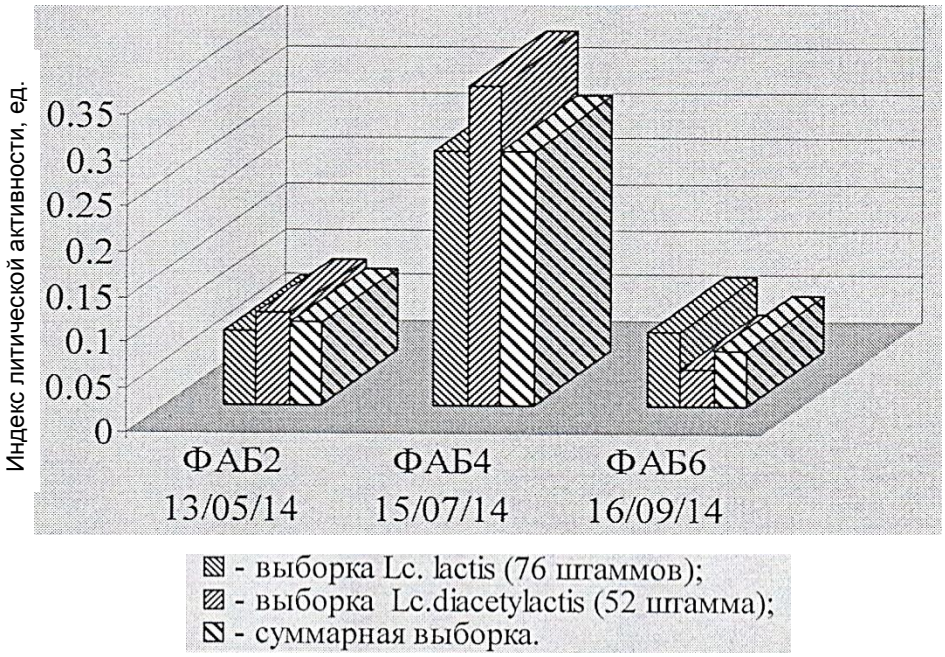


Рис. 2. Интегральная литическая активность фаговых ассоциаций предприятия «Б»

При этом необходимо отметить существование в течение всего периода наблюдений выраженных трендов динамики ИЛА, как в системе координат «выборка — пробы», так и в системе координат «проба — выборки». Причем выраженность трендов не сглаживается индивидуальными параметрами фагомониторинга для каждого предприятия (сезон года, длительность периода наблюдений, частота и схема отбора проб и др.).

Однако для ФА предприятия «Б» картина несколько иная. При незначительной в ряду выборок дифференциации литической активности ИЛА «внутри» каждой тестированной ФА просматривается большая вариабельность (ступенчатость) ИЛА каждой выборки от пробы к пробе.

Видно, что «групповые» ординаты в ряду ФА изменяются значительно, о чем свидетельствует наличие их пиковых значений (определенных по отношению ко всем выборкам) для «летней» ФАБ4. Наличие такого многовидового «максимума» говорит (в пределах полученных данных) в целом о большей литической «агрессивности» фагового пула этого предприятия в летний период наблюдений.

Интересно отметить, что ИЛА, определенный по отношению к культурам *Lc. diacetylactis*, для ФАБ4 был несколько выше, чем для культур *Lc. lactis* (0,35 против 0,28). Указанное превалирование (такое же по направленности, но меньшее по величине) отмечено и для ФАБ2. По-видимому, в определенном аспекте, здесь можно говорить о большей фагочувствительности культур *Lc. diacetylactis*.

Полученные данные несколько отличаются от результатов исследований ФА предприятия «С», на основе которых было сделано альтернативное предположение о меньшей интегральной чувствительности культур вида Lc. diacetylactis.

Естественно, что данное противоречие скорее говорит не о наличии выраженной дифференциации специфичности бактериофагов по отношению к этим гомологичным видам лактококков, а об уникальности фаговых пулов разных предприятий. Последнее в большей мере детерминируется различиями видового и штаммового состава применяемых бакпрепаратов и нативной микрофлоры молока-сырья, что свидетельствует о необходимости учета этой индивидуальности при оценке фагорезистентности применяемых бакпрепаратов и заквасочных культур.

Важно, что отмеченное ранее «летнее» увеличение литической агрессивности фагового фона предприятий свидетельствует о резком скачке репродукции бактериофагов на бактериальных клетках ферментирующих культур, причем в большей степени именно на заквасочной части рассматриваемого микробиоценоза, поскольку, как известно, уровень контаминации молока-сырья (произведенного в соответствии с нормативами) «дикой» микрофлорой в летний период значительно снижается [Гудков, 2004]. Наблюдаемый же скачок объясняется скорее всего ростом уровня/спектра фагов в фаговом пуле предприятия и «накоплением» высоковирулентных вариантов вследствие постоянной «микробиологической подпитки» этого пула культурами все новых партий бакпрепаратов и многократностью циклов их применения.

В целом исследования интегральной литической активности говорят о наличии динамической перманентно высокой степени фаговой контаминации тестированных МФС. Эта преемственность (от сезона к сезону) обусловлена либо продолжающейся репродукцией данного штамма (штаммов) фагов на клетках «дикой» (незаквасочной) микрофлоры, либо сохраняющимся широким спектром его литической активности, охватывающим и предыдущие, и последующие заквасочные культуры (несмотря на различие их лизотипов, лежащее в основе принципа ротации бакзаквасок).

Выводы

1. Исследования, проведенные в 2013–2014 гг. на двух заводах, выявили наличие в течение всего периода наблюдений достаточно высокого уровня интегральной литической активности тестированных ФА, представляющих фаговый пул предприятий.

2. Установлена значительная вариабельность литических и количественных параметров тестированных ФА, предопределяемых функционально-генетическими свойствами системы «фаг — индикаторная культура», что свидетельствует о необходимости учета этого в системе мер «интифаговой» защиты бактериальных заквасочных культур.

3. Отмеченные различия упомянутых параметров скорее говорят об уникальности фаговых пулов предприятий, детерминируемых их микробиоценозом, чем об имеющейся выраженной дифференциации видоспецифичности их фаговых пулов.

4. Выявлено наличие и сохраняемость выраженных трендов динамики параметров интегральной литической активности фагового пула (уровня/спектра и лизотипа) для обоих предприятий в течение периода наблюдений.

5. Полученные данные подтверждают актуальность проблемы бактериофагии в сыроделии и необходимость проведения дальнейших исследований.

Библиографический список

Ганина В.И., Волкова И.Р. Фаговый фон на предприятиях, вырабатывающих кисломолочные продукты // Переработка молока. 2005. №7 (68). С. 10.

Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / под ред. С.А. Гудкова. 2-е изд., испр и доп. М., 2004. 804 с.

Сорокина Н.П., Перфильев Г.Д. Активность заквасочной микрофлоры: причины снижения и способы повышения. Методы предотвращения поражения молочнокислых бактерий бактериофагами // Молочная промышленность. 2013. №11. С. 32–35.

Deveau H., Labrie S.J., Chopin M. ets. Biodiversity and classification of lactococcal phages // Applied and Environmental Microbiology. 2006. P. 338–346.

УДК 637.1

Т.Н. Орлова, А.Н. Иркитова

Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия (Барнаул, Россия)

ВЫДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ОБЪЕКТОВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ОТБОР СРЕДИ НИХ ШТАММОВ, НАИБОЛЕЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАКВАСОК И КОНЦЕНТРАТОВ

Представлены результаты по выделению молочнокислых бактерий из различных объектов природного происхождения. Проведена оценка выделенных штаммов по технологически-ценным свойствам. Приведены данные по сравнению между собой штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из растительных и животных объектов, по некоторым технологически-ценным свойствам. Отобраны наиболее ценные штаммы лактобактерий, выделенных из объектов природного происхождения, которые являются перспективными для создания бактериальных заквасок и препаратов.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, лактококки, выделение чистых культур, бактериальные закваски, бактериальные препараты.

T.N. Orlova, A.N. Irkitova

Siberian research Institute of cheesemaking (Barnaul, Russia)

ALLOCATION OF LACTIC BACTERIA FROM OBJECTS OF THE NATURAL ORIGIN AND SELECTION AMONG THEM OF STRAINS, THE MOST PERSPECTIVE FOR CREATION OF BAKTERIAL FERMENTS AND CONCENTRATES

Results on allocation of lactic bacteria from various objects of a natural origin are presented in article. The assessment of the allocated strains on technological and valuable properties is carried out. Data on comparison among themselves of strains of the lactic bacteria allocated from vegetable and animal objects on some technological and valuable properties are provided. The most valuable strains of the lactobacilli allocated from objects of a natural origin which are perspective for creation of bacterial ferments and preparations are selected.

Key words: lactic bacteria, laktokokk, allocation of pure cultures, bacterial ferments, bacterial preparations.

Качество готового молочного продукта во многом зависит от качества бактериальной закваски, используемой для приготовления этого продукта. Ассортимент бактериальных заквасок сегодня очень разнообразный, но все же поиск новых штаммов молочнокислых бактерий, перспективных в качестве заквасок и пробиотиков, является приоритетным направлением развития различных отраслей пищевой промышленности [Квасников и др., 1975].

Молочнокислые бактерии занимают самые разнообразные места обитания. Они повсеместно распространены в окружающей среде, в том числе на поверхности растений, в молоке, кисломолочных продуктах, в желудочно-кишечном тракте теплокровных животных, человека и на других объектах [Банникова, 1980].

В связи с этим целью данной работы явилось выделение чистых культур молочнокислых бактерий, перспективных для включения в состав бактериальных заквасок.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1) выделить и идентифицировать штаммы молочнокислых бактерий из различных объектов природного происхождения;

2) проверить выделенные штаммы на технологически ценные свойства;

3) сравнить штаммы между собой и отобрать наиболее ценные.

Объектами исследования были культуры молочнокислых бактерий, выделенные из различных природных объектов. Материалами исследования служили объекты растительного, животного происхождения, а также коммерческие бактериальные препараты и кисломолочные продукты.

Для работы с микроорганизмами использовали стандартные питательные среды и методы микробиологического анализа согласно МР 2.3.2.2327-08 от 07.01.2008.

Выделение чистых культур молочнокислых бактерий проводили многократным пассажем в стерильное обезжиренное молоко и последующим выращиванием при оптимальных температурах для каждой группы микроорганизмов.

Всего за период исследования было выделено 53 штамма молочнокислых бактерий.

Из растительных объектов было выделено 19 штаммов, по предварительным результатам идентификации относящихся к двум видам: *Lactococcus lactis ssp. lactis* — 13 штаммов, *L. lactis ssp.diacetilactis* — 6 штаммов.

Штаммы *L. lactis* и *L. diacetilactis* были проверены на время образования сгустка и на активность кислотообразования.

По времени образования сгустка среди штаммов *L. lactis* большую часть (46,44%) составили сильные штаммы, образующие сгусток за 18 ч, штаммов, сворачивающих обрат в течение 19–24 ч, оказалось 23,08%, на долю слабых штаммов пришлось 30,77%. Среди *L. diacetilactis* основную группу составили слабые штаммы (50%), штаммов, обладающих способностью сворачивать обрат в течение 18 ч, обнаружилось 33,33%.

Проверка кислотности показала, что основную группу среди *L. lactis* (76,92%) составляют штаммы со средней активностью кислотообразования (70–90 °Т), сильных штаммов, имеющих кислотность более 90 °Т, оказалось всего 7%. Штаммы *L. diacetilactis* показали следующие результаты: 50% штаммов — слабые кислотообразователи и 50% — средние кислотообразователи.

Штаммы *L. diacetilactis* дополнительно были проверены по таким критериям, как активность газо- и ароматообразования.

По активности газообразования большую группу (50%) составили штаммы *L. diacetilactis*, у которых высота поднятия сгустка 1–2 см, штаммов, у которых отрицательная способность к газообразованию, оказалось 16,67%.

По способности к ароматообразованию выделенных штаммов *L. diacetilactis*, результаты распределились следующим образом: основную группу (60%) составили штаммы с отрицательной реакцией на ароматообразование, в равных частях, по 20%, оказались штаммы, у которых окраска в ходе реакции проявилась через 5–10 и 10–15 мин.

Выделенные штаммы *L. lactis* и *L. diacetilactis* были продегустированы и оценены по балльной шкале. Оценивались такие показатели, как внешний вид и консистенция; вкус и аромат.

Проанализировав все полученные данные, мы отобрали 6 штаммов, обладающих технологически ценными свойствами, которые могли бы использоваться в производственных целях. Все данные штаммы оказались одного вида — *L. lactis*.

Из объектов животного происхождения было выделено 34 штамма лактобактерий: 16 штаммов — *L. lactis ssp. lactis*, 13 штаммов — *L. lactis ssp. diacetilactis*; два штамма — *L. lactis ssp. cremoris*; 2 штамма — термофильные молочнокислые палочки, один штамм — мезофильные молочнокислые палочки.

Все штаммы были проверены на время образования сгустка и титруемую кислотность.

По времени образования сгустка 43,75% выделенных штаммов *L. lactis* (большая часть) свернули обрат за 18 ч; 37,5% — в течение 19–24 ч; доля слабых штаммов составила 18,75%. У большинство штаммов *L. diacetilactis* (более 69%) время образования сгустка составило 18 ч, в равном соотношении (по 15%) обнаружены штаммы, сворачивающие обрат за 19–24 ч и свыше 24 ч.

По кислотообразованию основную группу среди *L. lactis* (более 43%) составили штаммы со средней активностью кислотообразования (70–90 °Т), штаммов, которые обладали кислотностью более 90 °Т — 31% от общего числа. Из *L. diacetilactis* основная доля (более 53%) пришлась также на штаммы, обладающие средней способностью кислотообразования. 30,77% *L. diacetilactis* оказались сильными кислотообразователями (свыше 90 °Т).

Штаммы *L. diacetilactis* дополнительно были проверены по таким критериям, как время образования сгустка, активность кислотообразования, активность газо- и ароматообразования.

При проверке на ароматообразование у большинства штаммов (53,85%) окраска в ходе реакции произошла в течение 10–15 минут (штаммы средней активности).

Штаммы *L. cremoris* были проверены на время образования сгустка, на активность кислотообразования и на активность ароматообразования.

Выделенные молочнокислые палочки также были проверены на время образования сгустка и активность кислотообразования.

Все штаммы, выделенные из объектов животного происхождения, были продегустированы в чистом виде и оценены по балльной системе.

В результате из всех штаммов, выделенных из объектов животного происхождения, было выбрано 10 штаммов, что составило 30% от общего количества выделенных штаммов.

В итоге нам удалось выделить из объектов природного происхождения 16 штаммов лактобактерий, обладающих технологически ценными свойствами и являющихся перспективными для создания бактериальных заквасок и препаратов.

В дополнение было проведено сравнение штаммов *L. lactis* и *L. diacetilactis*, выделенных из растительных и животных объектов, по технологически ценным свойствам с целью выявить, отличаются ли штаммы по свойствам в зависимости от источника выделения. Штаммы *L. lactis* сравнивались по таким показателям, как время образования сгустка и активность кислотообразования. По данным, полу-

ченным в ходе наших исследований, получилось, что по времени образования сгустка чуть более активными являются штаммы, выделенные из источников животного происхождения. По титруемой кислотности штаммы, выделенные из растительных источников, имеют больший процент по средней кислотности (70–90 °Т), но все-таки сильную группу кислотообразователей составляют в основном штаммы животного происхождения.

Штаммы *L. diacetilactis* сравнивали по активности газо- и ароматообразования. По способности к газообразованию более активными являются штаммы, выделенные из растительных объектов. По способности к ароматообразованию результаты разделились: в группе, в которой окрашивание происходит в течение 5–10 мин (сильные штаммы), преобладали растительные штаммы, а в группе, где реакция проявлялась через 10–15 мин, преобладали штаммы животного происхождения.

Также проводилось сравнение всех штаммов растительного и животного происхождения по дегустационной оценке. По наивысшей оценке за органолептические показатели штаммы растительного и животного происхождения имели практически равное процентное соотношение.

Таким образом, технологически ценные штаммы молочнокислых бактерий можно выделить из разнообразных природных источников, из объектов как растительного, так и животного происхождения.

Библиографический список

Банникова Л.А. Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности. М., 1975. 225 с.

Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М., 1975. 384 с.

УДК 66.023.2

И.Н. Павлов, В.В. Будаева, М.Н. Денисова

Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

УСТАНОВКА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТЕХНИЧЕСКОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ИЗ НЕДРЕВЕСНОГО СЫРЬЯ МЕТОДОМ ГИДРОТРОПНОЙ ОБРАБОТКИ*

Представлена универсальная термобарическая установка для изучения гидротропного способа переработки недревесного сырья под избыточным давлением при постоянном качании камеры с амплитудой 150°. Условиями проведения процесса обработки являются температура пребывания в реакторе 160–180 °С, достигаемое давление 0,6–1,0 МПа, продолжительность 3–5 ч, модуль обработки 10 : 1. В качестве варочного раствора используется 35% водный раствор бензоата натрия. Исследование гидротропной обработки в найденных оптимальных условиях позволит выявить общие закономерности и обнаружить принципиальные отличия физико-химических особенностей целлюлозы и структурно-размерных характеристик волокна, выделенного из различных видов сырья.

Ключевые слова: универсальная термобарическая установка, гидротропная обработка, недревесное сырье.

* Работа выполняется при финансовой поддержке РФФИ и Главного управления экономики и инвестиций Алтайского края в рамках научного проекта №15-43-04062 «р_сибирь_а».

I.N. Pavlov, V.V. Budaeva, M.N. Denisova
Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

A SETTING FOR PRODUCTION PULP FROM NON-WOODY RAW MATERIALS BY HYDROTROPES COOKING

A versatile thermobaric setup is introduced to study the hydrotropic method for non-woody biomass conversion under excess pressure and constant chamber swinging with an amplitude of 150°. The process conditions are as follows: retention temperature of 160–180 °C in the reactor, achievable pressure of 0.6–1.0 MPa, duration of 3–5 h, and liquid-to-solid ratio of 10 : 1. A 35% aqueous solution of sodium benzoate was used as the cooking liquor. The investigation of the hydrotropic processing under optimum conditions identified will allow one to reveal common regularities and detect conceptual distinctions in physicochemical features of pulps and structural-dimensional characteristics of the fiber isolated from various raw materials.

***Key words*:** universal thermobaric setting, hydrotropic treatment, non-wood raw materials.

Получение технических целлюлоз сводится к делигнификации, т.е. освобождению целлюлозы от сопровождающих ее компонентов, основным из которых является лигнин [Klemm, 2005, p. 3358–3393]. В зависимости от выбора делигнифицирующего агента и его специфического воздействия на лигноуглеводородный комплекс получаемые технические целлюлозы отличаются по своим химическим свойствам. Главным образом, свойства определяются содержанием различных примесей, которые влияют на качество целевых продуктов, одним из которых является бумага. Основными примесями к получаемым техническим целлюлозам являются лигнин и гемицеллюлозы. В отличие от целлюлозы, предназначенной для химической переработки, где решающую роль играет химическая чистота, т.е. практически полное отсутствие нецеллюлозных компонентов, для целлюлозы, предназначенной для переработки на бумагу, особо значение имеют бумагообразующие свойства, прежде всего способность выполнить требования по механической прочности волокна целлюлозы. Известно, что основная часть бумаги в мире производится из древесноволокнистых сырьевых материалов традиционными промышленными сульфатными и сульфитными способами. Основные показатели химического состава и механической прочности целлюлозы, вырабатываемой по этим способам, регламентированы государственными стандартами для бумажного производства. Однако их применение связано с использованием кислотных и щелочных реагентов, что приводит к необходимости решения проблем с переработкой и утилизацией вредных отработанных щелоков. Поэтому перспективные направления в производстве целлюлозы связаны с применением экологически безопасных процессов. В качестве альтернативы предлагаются экологически безопасные процессы получения целлюлозы, связанные с использованием методов окислительной делигнификации [Ивахнов, 2010, с. 15–25], применением дикарбоновых кислот, таких как малеиновая и щавелевая кислоты [Jae-Won Lee, 2011, p. 5884–5890], смесью пероксида водорода с уксусной или муравьиной кислотой.

В свою очередь, экологические проблемы сохранения лесов, в сочетании со ссылкой на возможные недостатки древесины при увеличении спроса на бумагу, приводят к повышенному интересу к недревесным легковозобновляемым источникам [Haichao Li, 2015, p. 193–196; Hurter, 2014, p. 5–6]. К этим источникам относятся быстрорастущие растения, а также отходы сельскохозяйственной переработки — пшеничная солома, рисовая солома [Цой, 2015, с. 17–18], стебли кукурузы, оболочки зерновых культур.

В Институте проблем химико-энергетических технологий ведутся исследования по выделению целлюлозы из мискантуса российского происхождения и плодовых оболочек овса с применением экологически безопасного гидротропного способа переработки [Денисова, 2013, с. 545–549]. В качестве делигнифицирующих агентов по данному способу используются водные растворы гидротропных солей органических кислот, а также щелочные бензоаты [Korpinen, 2009, p. 69–82]. Данный метод обработки привлекателен тем, что растительные материалы испытывают весьма мягкое воздействие в сравнении с действием при сульфитной или сульфатной варках. В следствии чего обработка характеризуется более высоким выходом целлюлозы без травмирующего действия на нативное волокно независимо от источника сырья. Исследование особенностей получаемых целлюлоз и характеристик волокна проводится в рамках действующего проекта РФФИ №15-43-04062 р_сибирь_а «Исследование физико-химических особенностей целлюлозы и структурно-размерных характеристик волокна, полученных гидротропным способом из легковозобновляемых видов недревесного сырья». Для проведения экспериментальных исследований используется универсальная термобарическая установка (УТБ), позволяющая проводить процесс под избыточным давлением (рис.).

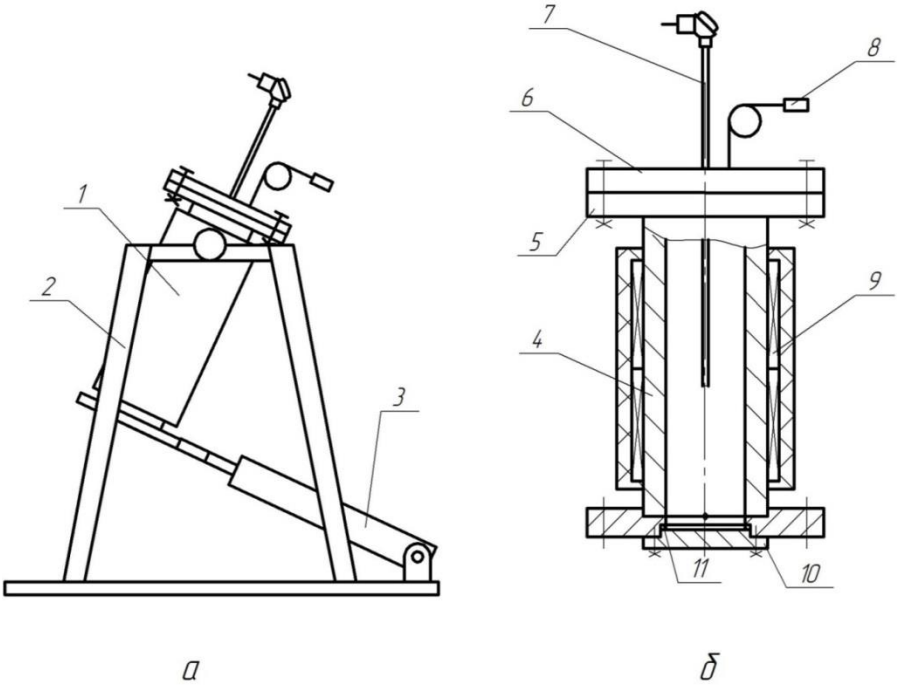


Схема универсальной термобарической установки:
1 — реакционная камера; 2 — Д-образная платформа; 3 — пневмопривод; 4 — корпус; 5 — фланец; 6 — крышка; 7 — датчик температуры; 8 — датчик давления; 9 — нагреватель; 10 — заглушка; 11 — уплотнение; *а* — монтаж реакционной камеры на Д-образной платформе; *б* — реакционная камера

При проведении процесса гидротропной варки реакционная камера *1* объемом 2,3 л монтируется на Д-образной платформе *2*. В начале работы реакционная камера вывешивается при помощи цапф в шарнирах верхней площадки платформы, а в нижней — крепится к штоку пневмопривода *3*. Образуется кинематическая схема, обеспечивающая смещение корпуса на угол 150° и возвращение в первоначальное положение. Таким образом, в ходе работы совершается качание реакционной камеры. Условиями проведения процесса обработки являются: температура пребывания в реакторе 160–180 °С, достигаемое давление 0,6–1,0 МПа, длитель-

ность пребывания 3–5 ч, модуль обработки 10 : 1. В качестве варочного раствора используется 35% раствор бензоата натрия. Подготовленную навеску сырья в количестве 100 г закладывают в реакционную камеру и заливают расчетным количеством раствора бензоата натрия. Камеру герметизируют и далее включают систему пневмопривода, настройки которой обеспечивают возвратно-поступательный ход штока с заданной интенсивностью. Такая работа создает качание реакционной камеры на протяжении всего процесса. Затем подают питание на ленточные нагревательные элементы, что обеспечивает нагрев содержимого камеры и выход процесса на рабочие условия варки. Процесс является автоматизированным, а при достижении рабочих параметров осуществляется автоклавирование при заданной температуре, давлении и интенсивности перемешивания. Регулирование рабочих параметров варки идет с помощью контрольно-измерительной системы, состоящей из датчиков и приборов, установленных в щите управления. Рабочими условиями процесса являются давление, температура, продолжительность и интенсивность качания, которые определяют степень делегнифицирующего воздействия варочного агента и выход технической целлюлозы. По завершении процесса происходят отключение питания всех систем установки и естественное охлаждение реакционной массы в объеме реакционной камеры до комнатной температуры. Выгрузку производят через нижний фланец после демонтажа заглушки и ориентации аппарата в вертикальном положении. Весь полученный продукт (суспензия технической целлюлозы в варочном растворе) собирают и направляют на отжим целлюлозы от отработанного гидротропного раствора.

Отжим проводят на корзиночном прессе емкостью 5 л. Основными рабочими органами пресса являются цилиндрическая емкость с расположенной в нижней части перфорированной перегородкой и вертикальный поршень, закрепленный на винтовом штоке. При опускании поршня создают давление на продукт за счет создания усилия затяжки штока поршня. Регулированием создаваемого давления достигают условия выхода отработанного варочного раствора с желаемой интенсивностью. Полученную целлюлозу промывают от отработанного раствора. Промывку производят в цилиндрической вертикальной емкости, оборудованной перемешивающим устройством. Промывку ведут дважды свежей порцией 35% раствора бензоата натрия с модулем 1 : 20 при 90–95 °С в течение 1 ч при вращении мешалки с малой скоростью, проводят окончательный отжим технической целлюлозы и далее промывают ее дистиллированной водой при комнатной температуре до обесцвечивания промывных вод.

Обработка российского мискантуса и плодовых оболочек овса в растворе бензоата натрия на установке УТБ в найденных оптимальных условиях позволит выявить общие закономерности и обнаружить принципиальные отличия физико-химических особенностей целлюлозы и структурно-размерных характеристик волокна выделенных целлюлоз. В качестве факторов, определяющих свойства целлюлоз с точки зрения их использования в бумажном производстве, рассматриваются выход целлюлозы и содержание лигнина в ней.

Гидротропный способ интересен еще и как процесс фракционирования биомассы в целлюлозу и лигнин [Gabov, 2013, p. 3518–3531]. Поскольку клеточные стенки претерпевают меньшие изменения, это приводит к повышенному выходу целлюлозы и удовлетворительному выходу лигнина с повышенной реакционной способностью [Cordeiro, 2002, p. 135–142]. Гидротропный лигнин можно потенциально рассматривать как источник фенольных веществ, связующее для композитов и сырье для получения активированного углерода и углеродных волокон. Таким образом, применение способа гидротропной варки позволит реализовать принципы

комплексной технологии (biorefinery) применительно к целлюлозно-бумажной промышленности [Moshkelani, 2013, p. 1427–1436].

В развитие полученных положительных результатов исследования гидротропной варки недревесного сырья предусмотрено дальнейшее масштабирование процесса по объему в соответствии с действующим лабораторным технологическим регламентом ЛТР 10018691.02101.00064 «Комплексная переработка растительного сырья в целлюлозосодержащие продукты и исходные компоненты для химического синтеза и биотопливо» в рамках технологического проекта: изучение основного процесса гидротропной варки в реакторе емкостью 100 л.

Библиографический список

Денисова М.Н., Будаева В.В. Характеристики целлюлозы, полученной гидротропным способом на универсальном термобарическом устройстве // Химия в интересах устойчивого развития. 2013. №21. С. 545–546.

Ивахнов А.Д., Боголицын К.Г., Скребец Т.Э. Окислительная делигнификация древесины в среде сверхкритического диоксида углерода. 3. Химический состав волокнистого полуфабриката // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2010. Т. 5, №4. С. 15–25.

Цой Е.А. Кремнийсодержащие соединения из соломы риса: состав, строение, свойства : автореф. дис. … канд. хим. наук. Владивосток, 2015. 19 с.

Cordeiro N., Neto C.P., Rocha J., Belgacem M.N., Gandini A. The organosolv fractionation of cork components // Holzforschung. 2002. №56. P. 135–142.

Gabov K., Fardim P., Gomes F. Hydrotropic fractionation of birch wood into cellulose and lignin: a new step towards green biorefinery // Bioresouces. 2013. V. 8, №3. P. 3518–3531.

Haichao Li, Huizhen Sun, Zhibin He. Achnatherum inebrians straw as a potential raw material for pulp and paper production // Journal of Cleaner Production. 2015. V. 101. P. 193–196.

Hurter B. Nonwood fibers offer potential opportunity for papermakers // TAPPI Journal. 2014. V. 13, №6. P. 5–6.

Jae-Won Lee, Thomas W. Jeffries. Efficiencies of acid catalysts in the hydrolysis of lignocellulosic biomass over a range of combined severity factors // Bioresource Technology. 2011. V. 102. P. 5484–5890.

Klemm D., Heublein B., Fink H-P., Bohn A. Cellulose:fascinating biopolymer and sustainable raw material // Cellulose: Chemistry and Application. 2005. V. 44. P. 3358–3393.

Korpinen R., Fardim P. Lignin extraction from wood biomass by a hydrotropic solution // Papel. 2009. V. 70, №5. P. 69–82.

Maryam Moshkelani, Mariya Marinova, Michel Perrier, Jean Paris. The forest biorefinery and its implementation in the pulp and paper industry: Energy overview // Applied Thermal Engineering. 2013. V. 50. P. 1427–1436.

УДК 579.66

Д.С. Перевязка, А.А. Самков, Н.Н. Волченко, Э.В. Карасёва, А.А. Худокормов

Кубанский государственный университет (Краснодар, Россия)

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ — ПРОДУЦЕНТОВ ЛИПИДОВ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ БИОТОПЛИВА ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЯ

Все большее внимание исследователей со всего мира привлекают одноклеточные микроводоросли как продуценты ценных биологически активных веществ — белков, липидов, углеводов, витаминов и т.д., которые представляют интерес для различных отраслей производства: агропромышленного — как высокоэффективная белковая добавка в рацион сельскохозяйственных животных и птицы и как биоудобрение; фармацевтического — как продуценты омега-3 жирных кислот и витаминов; топливно-

энергетического — как продуценты липидов, которые впоследствии используются для получения биотоплива 3-го поколения, а именно биодизельного топлива.

Ключевые слова: микроводоросли, липиды, белки, культивирование, биотопливо, биодизель.

D.S. Perevyazka, A.A. Samkov, N.N. Volchenko, E.V. Karaseva, A.A. Khudokormov

Kuban State University (Krasnodar, Russia)

CULTIVATION OF MICROALGAE — PRODUCERS OF LIPIDS FOR THE PURPOSE OF RECEIVING BIOFUEL OF THE 3RD GENERATION

The increasing attention of researchers is drawn from around the world by monocelled microalgae as producers of the active biologically valuable materials — proteins, lipids, carbohydrates, vitamins, etc. which are of interest to various branches of production like the agro-industrial such as a high performance proteinaceous additive in a diet of farm animals and birds and as biofertilizer; the pharmaceutical such as producers an omega-3 of fatty acids and vitamins; power — as producers of lipids which are subsequently used for receiving biofuel of the 3rd generation, namely biodisel fuel.

Key words: microalgae, lipids, proteins, cultivation, biofuel, biodiesel.

По мере истощения традиционных источников энергии человечество обращает внимание на ее альтернативные источники. В настоящее время внимание привлечено к использованию биотоплива третьего поколения, а именно биотопливу, полученному на основе микроводорослей [Мещерякова, 2012, с. 33]. Специфика метаболизма ряда представителей микроальгофлоры, связанная с продуцированием метаболитов с ценными для человека свойствами, сделала микроводоросли одним из важных объектов биотехнологии [Макарова, 2009, с. 120]. В условиях дефицита азота (в условиях стресса) многие виды водорослей могут накапливать липиды. Так, в некоторых видах водорослей при оптимальных условиях культивирования содержание липидов превышает таковое в масличных растениях: у *Scenedesmus dimorphus* содержание липидов составляет 16–40%, у *Prymnesium parvum* — 22–38%, *Euglena gracilis* — 14–20%, *Chlorella vulgaris* — 14–22%, *Dunaliella salina* — 16–44%, *Haematococcus pluvialis* — 25–45%, *Tetraselmis suecica* — 20–30%, *Isochrisis galbana* — 22–38%, *Nannochloropsis sp.* — 33–38%, *Stichococcus sp.* — 40–59%, а у *Botryococcus braunii* — до 80%. Наиболее изученными из всех отделов водорослей являются зеленые водоросли, в частности микроводоросль — *Chlorella vulgaris* [Марков, 2009, с. 84; Чернова, 2008, с. 70].

В ходе опытов на кафедре генетики, микробиологии и биотехнологии Кубанского государственного университета произведен скрининг культур микроводорослей, как в виде монокультур, так и в составе природного микробного сообщества. Для решения поставленных задач был проведен комплекс взаимосвязанных исследований, направленный на сбор, выделение и изучение процессов культивирования микроводорослей в лабораторных условиях. В соответствии с разработанным планом теоретических и экспериментальных исследований проведен отбор из природных источников микроводорослей с высоким содержанием липидов. Наиболее перспективными микроорганизмами для получения биотоплива на сегодняшний день являются микроводоросли *Botryococcus braunii*, однако ввиду их незначительной численности в водоемах Краснодарского края, а также неспособностью при интродукции выдерживать конкуренцию с аборигенной микрофлорой было решено рассмотреть в качестве продуцента липидов монокультуры штаммов рода *Chlorella*, являющихся типичными обитателями водоемов Южного федерального округа.

Штамм не требователен к питательной среде, углекислому газу, механическому перемешиванию и обладает высокой продуктивностью. Для него характерна исключительная приспособленность к условиям аквакультуры. Для его культивирования не требуется соблюдения стерильности. При культивировании он соблюдает монокультуру штамма. Важным этапом на пути к созданию экономически оправданных технологий получения компонентов моторных топлив из биомассы микроводорослей является оптимизация условий их выращивания. В литературе описано несколько использующихся видов питательных сред для микроводорослей: это среды Пратта, Тамия, Болда, Богданова, Кноппа, Кратца — Майерса и др. Нами было выполнено пробное культивирование, позволяющее оценить скорость роста культуры *Chlorella sp.* И величину прироста биомассы, результаты показаны на рисунке 1. В засевной дозе количество микроводорослей колебалось в пределах 1–2*10^6 кл/мл. Подсчет клеток производился в счетной камере Горяева. Наиболее продуктивными оказались среды Богданова (7,5*10^7 кл/мл на 16-е сутки) и Тамия (5*10^7 кл/мл на 16-е сутки).

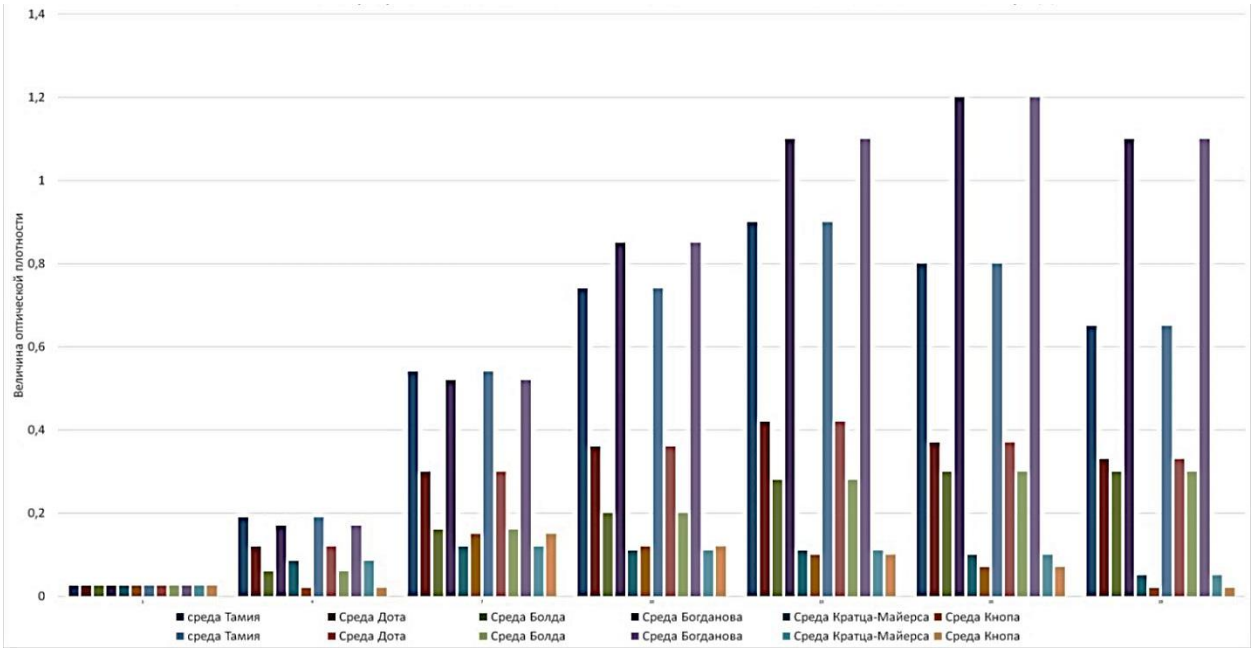


Рис. 1. Величина и прирост биомассы в зависимости от состава питательной среды (вертикальная ось — величина оптической плотности, горизонтальная ось — количество суток)

Ввиду того, что среда Богданова является наиболее простой, а ее компоненты доступны и могут быть внесены в природные и искусственные открытые водоемы, нами была использована эта среда. В дальнейшем проводились опыты по оптимизации питательной среды Богданова с целью увеличения выхода биомассы и по содержанию внутриклеточных липидов. Были приготовлены модификации среды Богданова с 50% содержанием азота в среде; с нулевым содержанием азота в среде; со 100% содержанием азота, но в водопроводной воде без добавления калимагнезии и среда с использованием водопроводной воды с 50% содержанием азота и без калимагнезии. Наилучший результат показала среда с 50% содержанием азота (6,6*10^7 кл/мл). Данная модификация обеспечила достаточно высокий выход биомассы (рис. 2) и внутриклеточных липидов (рис. 3).

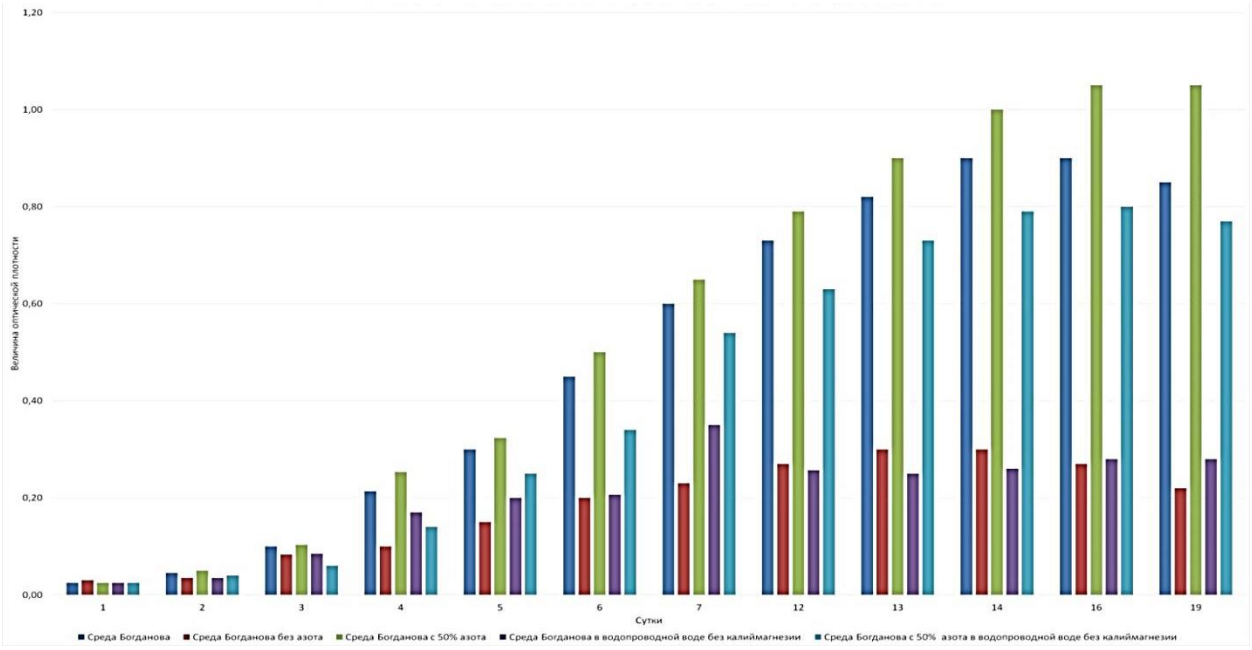


Рис. 2. Величина и прирост биомассы на модифицированной среде Богданова

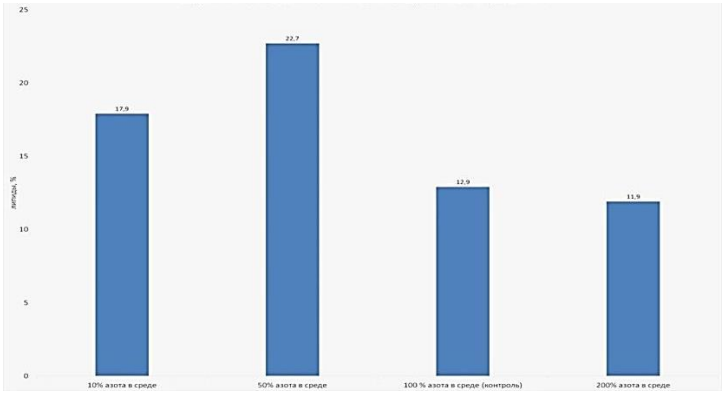


Рис. 3. Содержание внутриклеточных липидов микроводорослей, выращенных на модифицированных средах Богданова

Таким образом, оптимизация условий культивирования является основным этапом при культивировании микроводорослей. Урезание количественного содержания азота в среде Богданова, являющейся оптимальной, со 100 до 50% привело к возникновению стрессовых условий для культуры микроводорослей, что вызвало увеличение содержания липидов в клетке и практически не отразилось на приросте биомассы. Использование такой модифицированной среды Богданова представляется наиболее целесообразным при стимулировании накопления липидов штаммом *Chlorella sp,* выделенном из природных водоемов Краснодарского края. Данный штамм благодаря ряду технологических преимуществ будет использован в дальнейшей работе по разработке научных подходов к культивированию микроводорослей в открытых водоемах Краснодарского края для получения липидов, каротиноидов и кормовой добавки для включения в рацион сельскохозяйственных животных и птицы.

Библиографический список

Макарова Е.И., Отурина И.П., Сидякин А.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей — обитателей водных экосистем // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2009. Вып. 20. С. 120–133.

Марков С.А. Использование водорослей для получения биотоплива и удаления избытка углекислого газа из атмосферы // Альтернативная энергетика и экология. 2009. №2 (70). С. 83–90.

Мещерякова Ю.В., Нагорнов С.А. Культивирование микроводоросли хлорелла с целью получения биотоплива // Университет имени В.И. Вернадского. Специальный выпуск (43). 2012. С. 33–36.

Чернова Н.И., Киселёва С.В., Коробкова Т.П., Зайцев С.И. Микроводоросли в качестве сырья для получения биотоплива // Альтернативная энергетика и экология. 2008. №9 (65). С. 68–74.

УДК 664.251:573.6

Т.Н. Пивненко

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет — Дальрыбвтуз (Владивосток, Россия)

ФУНКЦИОНАЛЬНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОАКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ИЗ МОРСКОГО СЫРЬЯ

Проведены исследования функциональных свойств ферментативных гидролизатов из двустворчатых моллюсков и молок рыб, содержащих свободные аминокислоты, пептиды и олигонуклеотиды. Показано их влияние на антиоксидантную и иммунную системы организма человека. Установлено, что в рекомендуемых дозировках гидролизаты способны регулировать метаболические процессы дрожжей и молочнокислых бактерий. Это позволяет интенсифицировать технологические процессы при добавлении гидролизатов в хлебные и кисломолочные продукты.

Ключевые слова: ферментативные гидролизаты, морские организмы, технология функциональных продуктов

T.N. Pivnenko

Far Eastern State Technical Fisheries University — Dalrybvtuz (Vladivostok, Russia)

FUNCTIONAL FOR TECHNOLOGY AND BIOACTIVE PROPERTIES OF ENZYMATIC HYDROLYZATES FROM MARINE RAW MATERIALS

There were investigated functional properties of enzymatic hydrolyzates of bivalve molluscs and fish's milts, containing free amino acids, peptides and oligonucleotides. There were shown their effects on antioxidant and immune system of the human organism. It is found that at the recommended dosages hydrolyzates are able to regulate the metabolic processes of yeasts and lactic acid bacteria. It allows intensifying technological processes with the addition of hydrolyzates in the grain and dairy products.

Key word: enzymatic hydrolyzates, marine organisms, technology of functional food.

Ценным сырьевым ресурсом для получения биологически активных веществ (БАВ) различной химической природы могут служить побочные продукты промышленной переработки многих видов морских организмов, особенно беспозвоночных (моллюсков, иглокожих, ракообразных), составляющих до 60% от массы улова. В этой связи актуальной является разработка новых препаратов широкого диапазона действия в качестве основы для создания функциональных пищевых продуктов (ФПП) и обоснования рекомендаций по их применению в нутрициологии. Предлагаемые технологии переработки водно-биологического сырья включают в качестве основной стадии ферментативный гидролиз с использованием различных

классов ферментов, что позволяет обогатить получаемые продукты целевыми действующими компонентами различной направленности. Получены ферментативные гидролизаты из моллюсков, обогащенные свободными аминокислотами; из гонад гидробионтов, содержащие свободные аминокислоты и олигонуклеотиды; из хрящевой ткани гидробионтов, содержащие аминосахара и растворимый коллаген; из мускульного мешка голотурий (трепанга и кукумарии), содержащие фрагменты растворимого коллагена, хондроитин сульфаты и тритерпеновые гликозиды. Среди добавок, обладающих доказанным положительным влиянием на физическую работоспособность и адаптацию, полностью безопасных для человека и животных, можно выделить амино-пептидные (АПГ) и амино-нуклеотидные (АНГ) гидролизаты из сырья морского происхождения. АПГ получены из двустворчатых моллюсков (мидия, гребешок, мактра, мерценария), содержат полный набор протеиногенных аминокислот, а также большое количество минорных компонентов (не менее 60%). Среди них таурин, цитруллин, орнитин, β-аланин, а также гистидинсодержащие дипептиды: карнозин, анзерин, гомокарнозин. АНГ получены из молок лососевых рыб и кроме свободных аминокислот (около 50%) содержат 20–25% низкомолекулярной (300 кДа) ДНК и олигонуклеотидов [Пивненко и др., 2012, с. 698; Беседнова, Эпштейн, 2002, с. 18; Bordbar at el., 2011, p. 1761].

Использование ферментативных гидролизатов в пищевой промышленности наряду с созданием ФПП при обогащении их питательными и биоактивными компонентами позволяет интенсифицировать технологические процессы путем активации микроорганизмов, таких как дрожжи или молочнокислые бактерии, обеспечивающих осуществление этих процессов.

Целью работы было исследование ферментативных гидролизатов морского происхождения в качестве веществ, оптимизирующих технологические процессы и оказывающие положительные эффекты на обменные процессы в организме человека при создании ФПП.

В работе использовали гидролизаты из двустворчатых моллюсков (ТУ 9283-24700472012 -04) и молок лососевых рыб (ТУ 9283-026-00038155-02); дрожжи хлебопекарные (ГОСТ 171-81); концентрат бактериальный для сметаны, содержащий смесь лактококков и вязких штаммов термофильного молочнокислого стрептококка (ТУ 9229-030-01610209-95).

Известно, что продукты питания могут быть отнесены к функциональным, если имеется возможность продемонстрировать их позитивный эффект на отдельные ключевые функции организма человека и идентифицировать конкретные маркеры этих функций, чувствительные к модулирующему эффекту таких ингредиентов, в безопасных для организма количествах [ГОСТ 52349-2005, с. 2]. Для АПГ такие маркеры были обнаружены при исследовании антиоксидантной активности. Так, при взаимодействии аминокислот и дипептидов с гипохлорит-анионом были выявлены неактивные хлораминовые комплексы, показана способность ингибировать реакцию образования свободнорадикального соединения $ABTS^{\bullet+}$. Величина антиоксидантной активности в виде тролоксового эквивалента антиоксидантной емкости (TEAC) составила 45,0 ± 7,6 мг/г. Защитный антиоксидантный эффект АПГ проявлялся и в подавлении накопления малонового диальдегида в сыворотке крови. Кроме того, на фоне приема АПГ исследовали гемограммы, биохимические показатели и уровень регуляторных пептидов — цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИФНγ и растворимых рецепторов ИЛ-2 ($_{SR}$ИЛ-2) у спортсменов-гребцов в период интенсивных тренировок. Обнаружено положительное влияние на метаболические процессы и энергетический обмен, снижение уровня лактата в крови, увеличение продукции ИФНγ и моноцитов в крови, что обеспечивает усиление фагоцитарно-клеточной защиты.

В гидролизатах из молок лососей — АНГ — наряду с аминокислотами содержатся ДНК и олигонуклеотиды. Основным механизмом действия ДНК при пероральном приеме считают интенсификацию внутриклеточного метаболизма у нормально функционирующих клеток или его коррекцию при нарушениях. Наряду с антиоксидантным и иммуностимулирующим действием, сходным с показанным для АПГ, препарат активизировал физическую и умственную работоспособность, снижал уровень невротизации и эмоциональной напряженности и улучшал процессы памяти [Беседнова, Эпштейн, 2002, с. 27; Гуляков и др., 2004, табл. 1].

Были разработаны рецептуры и технологии ФПП для хлебных и молочных продуктов с использованием гидролизатов, получены галеты с различными количествами вносимых ингредиентов (1–6%), находящимися в диапазоне дозировок, имеющих подтверждения безопасности и биологического действия. В дальнейшем уточнили концентрации вносимых добавок на основании их влиянии на органолептические свойства продукта и рост дрожжей. Внесение обоих препаратов в количестве 1–3% не оказывало негативного влияния на органолептические свойства, отмечены не порочащие изменения цвета и появление слабого рыбного запаха. С увеличением количества добавок более 3% появлялся горьковатый привкус, а также резкий рыбный запах. Почти все исследованные показатели (влажность, намокаемость, кислотность и др.) находились в пределах требований ГОСТа. Исключение составил показатель щелочности и, как следствие, горьковатый привкус и потеря слоистости. Для устранения этого недостатка из рецептуры была исключена сода, что позволило нейтрализовать пороки вкуса и структуры. Основным фактором, обеспечивающим подъем теста (после исключения из рецептуры соды), остались хлебопекарные дрожжи, весьма чувствительные к введению стимуляторов различной природы. Исследовали влияние гидролизатов на стадии активации дрожжей, при которой предусмотрено использование питательной среды из муки, воды и сахара, выдерживание при 30–35 °С. Оценивали зависимость роста и активности дрожжевых клеток при внесении разных концентраций препаратов в течении 120 мин (рис. 1).

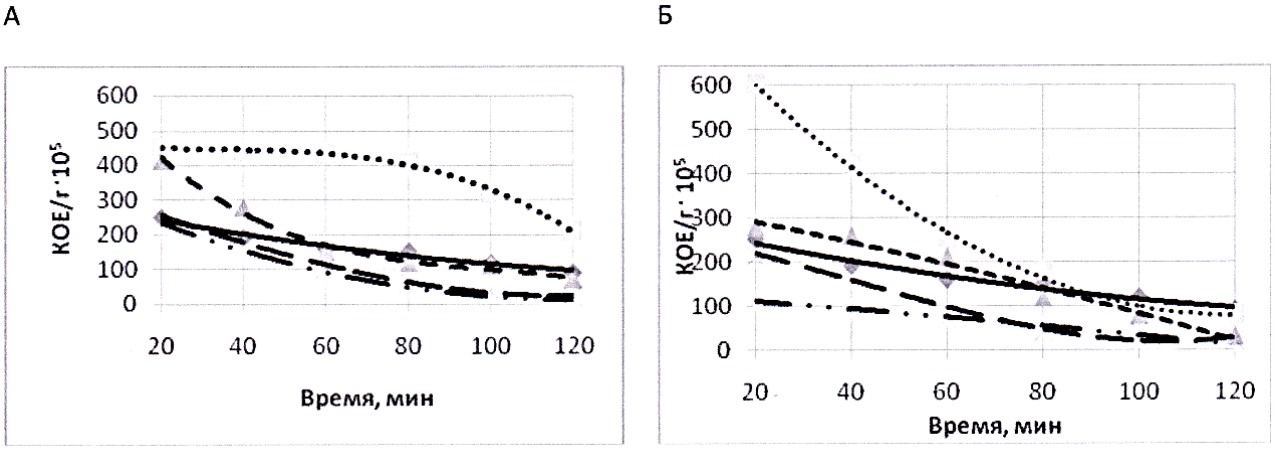


Рис. 1. Влияние гидролизатов на рост дрожжевых клеток на стадии активации галетного теста:

А — АПГ; Б — АНГ; —— контроль; ·····1%, --- 2%, – – – 3%, – · · – 4% от массы сухих веществ

Внесение добавок существенно изменило прирост дрожжевых клеток, наибольшую величину которого наблюдали при 1% концентрации обеих добавок, наиболее значительное увеличение биомассы имело место при добавлении АНГ (в 2,4 раза по сравнению с контролем). Увеличение концентрации добавок приводило к дозозави-

симому угнетению развития дрожжей. Наиболее выраженный эффект угнетения имел место при использовании АНГ. Основным фактором угнетения роста дрожжей явилось изменение осмотического давления питательной среды во время активации. Галетное тесто насыщено сахаром, солью и жиром, что увеличивает осмотическое давление в среде развития дрожжей. Внесение гидролизатов усилило осмотический стресс и показало прямую зависимость осмотической устойчивости дрожжей от концентрации добавок. Снижение прироста дрожжей при повышенных концентрациях гидролизатов напрямую зависело от их осмоустойчивости.

Введение добавок позволило предложить следующие изменения в технологии галет: сокращение времени активации и брожения тестовой заготовки (или снижение количества используемых дрожжей) и отказ от применения соды для снижения щелочности. При этом готовые изделия сохраняли адекватные органолептические качества при концентрации обеих добавок, не превышающей 3%. Приготовленные на основе такого теста галеты обладают полезными функционально-биологическими качествами для людей, имеющих интенсивную физическую и умственную нагрузку.

Для получения кисломолочных ФПП использовали базовые рецептуры с добавлением АНГ. При ферментировании смесей закваской, содержащей лактобактерии и стрептококки, наблюдали сходную динамику роста популяций микроорганизмов в контрольных и опытных образцах (рис. 2).

Это подтверждает их нормальное функционирование и развитие. Кинетические закономерности развития лактобактерий на комбинированных субстратах соответствовали таковым при сквашивании традиционных кисломолочных продуктов. Белки молока в условиях брожения показали выраженную способность к осаждению в изоэлектрической точке (pH 4,6–4,8) и образованию устойчивых термостабильных гелей под действием ионов двухвалентных металлов и высокой температуры.

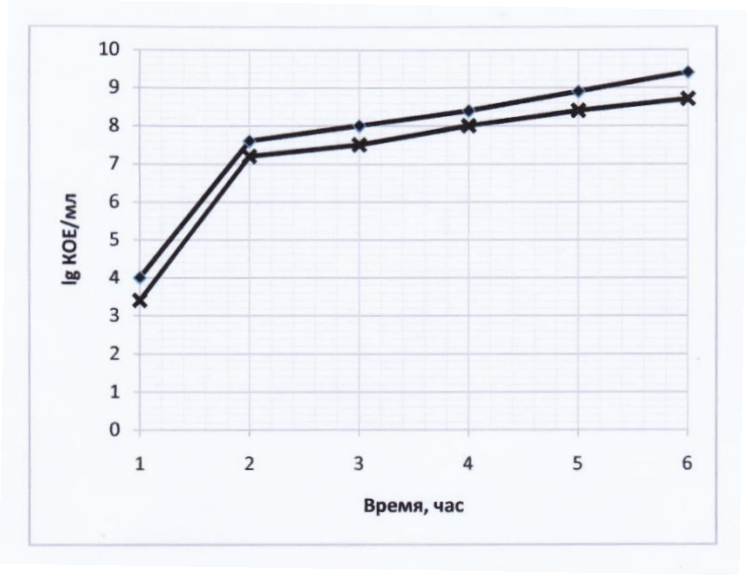


Рис. 2. Изменение количества клеток лактобактерий при сквашивании контрольных (x) и опытных (◊) субстратов на основе коровьего молока и АНГ

Для получения стабильных гелей с добавлением АНГ понадобилось 5 ч, в контрольных образцах — 6 ч. В указанные промежутки времени количество бактериальных клеток в 1 мл достигало 10^8–10^9 . Вязкость опытных образцов увеличивалась через 2 ч инкубации. Максимальное значение вязкости отмечали через 6 ч. Основ-

ными характерными показателями процесса гелеобразования были снижение pH среды до 4,7, снижение содержания фракций водо- и солерастворимых белков (%) от 1,2 до 0,13 и от 0,53 до 0,09; приобретение готовым продуктом вязкости, соответствующей консистенции густого йогурта. Таким образом, использование АНГ позволяет получить молочнокислые ФПП, содержащие биологически активные компоненты, а стимуляция метаболизма лактобактерий в процессе сквашивания молока позволяет получить продукты необходимого качества, обладающие большей устойчивостью к синерезису, в более короткие сроки.

В результате проведенных исследований показано, что ферментативные гидролизаты морского происхождения, содержащие олигонуклеотиды, свободные аминокислоты и пептиды при создании ФПП обеспечивают интенсификацию технологических процессов.

Библиографический список

Беседнова Н.Н., Эпштейн Л.М. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) из молок рыб. Перспективы клинического применения. Владивосток, 2002. 38 с.

ГОСТ 52349-2005. Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определение. Введ. 2006-07-01. М., 2011. 14 с.

Гуляков М.Б., Ковалев Н.Н., Позднякова Ю.М., Пивненко Т.Н., Эпштейн Л.М. Сравнительное исследование влияния БАД морских гидробионтов на физическую работоспособность // Изв. ТИНРО. 2004. Т. 136. С. 315–320.

Пивненко Т.Н, Ковалев Н.Н., Мирошниченко О.В., Шутикова А.Л., Мельников В.И. Аминокислоты двустворчатых моллюсков: биологическая активность и применение // Биология — наука XXI века : материалы Междун. конф. М., 2012. С. 698–700.

Bordbar S., Anwar F., Saari N. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Food // Mar Drugs. 2011. V. 9 (10). P. 1761–1805.

УДК 664.863

Е.В. Писарева

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЮКВЫ И БРУСНИКИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КВАСОВ ВЫСОКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ

Безалкогольные напитки, в частности квасы, могут стать доступными продуктами массового потребления, содержащими биологически активные вещества растительного происхождения. Для создания напитков с высокой пищевой ценностью возможно использовать клюкву и бруснику, произрастающие в Алтайском крае. Напитки на основе дикорастущих ягод имеют богатый витаминный состав. Витамин С сохраняется при рекомендованной технологии квасов.

Ключевые слова: клюква, брусника, квас, напиток, витамин С.

E.V. Pisareva

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

PROSPECTS FOR THE USE OF CRANBERRIES AND CRANBERRY TO OBTAIN KVASOV WITH A HIGH BIOLOGICAL VALUE

Non-alcoholic drinks, in particular brew can be made available to consumer products containing active substances of plant origin. To create a beverage with high nutritional value possible to use cranberries and cranberries growing in the Altai Territory. Drinks based on

wild berries are rich in vitamin composition. Vitamin C is maintained at the recommended technology kvass.

Key words: cranberry, cranberries, kvass, beverage, vitamin C.

В настоящее время в России наблюдается изменение отношения потребителей к собственному здоровью.

Доступными продуктами массового потребления, содержащими биологически активные вещества растительного происхождения, могут стать в России безалкогольные напитки. Однако ассортимент напитков на основе дикорастущего сырья, выпускаемый нашей промышленностью, составляет лишь несколько наименований, что обусловливает актуальность разработки рецептур новых напитков с повышенной биологической ценностью [Бондарева, 2015, с. 206–209].

Принципиально важной особенностью научно-исследовательских работ выбранного направления является ориентация на продукты питания, изготовленные с применением местного растительного сырья, биологическая ценность которого значительно выше, чем у импортных или привозимых из других районов России сырьевых компонентов.

Важно отметить, сырье природного происхождения, в частности ягоды-дикоросы, имеет полноценный биохимический состав. Природные компоненты воздействуют на организм человека мягко и не вызывают побочного действия.

Таким образом, актуальной задачей является расширение ассортимента безалкогольных напитков на основе плодово-ягодного сырья Алтайского края.

В качестве сырья рекомендуется использовать местные растения, а именно — ягоды-дикоросы, которые способствуют повышению иммунитета и улучшают состояние организма в целом.

Наиболее благоприятные природно-климатические условия для производства плодово-ягодной продукции существуют на юге Сибири, в Алтайском крае. Среднегодовое производство плодов и ягод в крае составляет 18,2 тыс. т плодов и ягод, или 7,0 кг на душу населения. Указанные объемы производства обеспечивают только 9,8% от необходимой медицинской нормы потребления данной продукции — 71 кг в год на человека [Миненко, 2011, с. 266–268.].

В производственных масштабах ведется сбор облепихи, клюквы, брусники, эти ягоды являются самыми перспективными с точки зрения промышленного использования.

Пищевая ценность ягод клюквы и брусники достаточно высока. Клюква растет в северной и средней полосе европейской части страны, в Сибири, на Урале и Дальнем Востоке. Созревает клюква в конце августа и в сентябре. Ягоды с сочной мякотью и плотной, блестящей кожицей темно красного цвета шаровидно-продолговатой формы, диаметром до 15 мм. Клюкву используют в пищевой промышленности и в медицине [Кощеев, 1991, с 64]. Клюквенные напитки используют для возбуждения аппетита. В клюкве содержится большое количество витамина С, органических кислот, пектиновых веществ, также большое количество флавоноидов.

Брусника произрастает на всей территории России, в тундровых и лесных зонах Сибири. Эта округлая ярко-красная ягода, созревает в июле-августе. В ягодах брусники много сахаров (до 10%), витамина С, каротина, а также органических кислот: лимонной, яблочной, щавелевой, бензойной, уксусной, пировиноградной, оксипировиноградной и др. В семенах обнаружено жирное масло (до 30%), содержащее линолевую и линоленовую кислоты. Брусника обладает вяжущим, мочегонным, противовоспалительным, седативным, противогнилостным и антисептическим свойствами [Поляков, 2011, с. 482–516].

В клюкве и бруснике богатый состав основных пищевых и микроэлементов, основными из которых являются Na, K, Ca, Mg, P, Fe. Витаминный состав ягод включает B_1 , B_2 , PP, а также β-каротин [Скурихин, 1987, с. 153, табл. 6.2].

Напитки на основе дикорастущих ягод издревле использовались для утоления жажды и в качестве лекарственных средств. Незаслуженно забыты многие напитки, которые обладают лечебным, профилактическим и общеукрепляющим свойствами, такие как взвары, сбитни, квасы.

На Руси всегда считалось, что квас способствует сохранению силы и здоровья и повышает работоспособность. Положительные свойства квасов подтвердили многочисленные исследования ученых. Доказано, что квасы снимают усталость, восполняют энергию и таким образом восстанавливают силы.

В 1913 г. В.С. Сотников проводил исследования, которые подтвердили гибель в квасе тифозных и паратифозных микроорганизмов. Если учесть, что наряду с микроэлементами в квасе содержится более десяти аминокислот, из них восемь незаменимых, то значение кваса становиться еще более весомым. Количество витаминов в квасе на первый взгляд не очень велико, но их регулярное поступление в организм дает ощутимый положительный эффект.

Расширение ассортимента напитков за счет использования натурального растительного сырья раскрывает возможности управления процессом поступления основных биопротекторов растительного происхождения в организм человека. Кроме того, за счет небольшой стоимости и высоких органолептических свойств можно обеспечить различные сегменты потребительского рынка доступными инновационными напитками, а также достичь результатов в оздоровлении за счет их массовости потребления населением [Поверин, 2006, с. 34–35].

На основании Распоряжения Правительства РФ от 25 октября 2010 г. №1873-р «Об утверждении основ государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года» происходит большое количество исследований в направлении создания доступных по цене продуктов питания с высокой биологической ценностью.

В Алтайском крае произрастает большое количество плодово-ягодного сырья с высокой пищевой ценностью, поэтому к приоритетным задачам следует отнести производство продуктов из местного сырья.

Сегодня у потребителей повышается интерес к традиционным русским напиткам, таким как квас, сбитень, взвар, медовуха. Наиболее конкурентоспособными напитками являются морсы и компоты благодаря легкой технологии производства, приятному вкусу, малой себестоимости, высоким органолептическим показателям.

Квас — традиционный славянский кислый напиток, который готовят на основе брожения из муки и солода (пшеничного, ячменного) или из сухого ржаного хлеба, иногда с добавлением пахучих трав, меда, вощины; он также приготовляется из свеклы, фруктов, ягод.

Согласно известной рецептуре, квас клюквенный изготавливают следующим образом. Подготовленную клюкву протирают и отжимают сок. Мезгу заливают горячей водой, варят от 5 до 8 мин и процеживают. В отвар добавляют разведенные дрожжи, сахар, отжатый сок и оставляют на время от 5 до 6 ч для брожения при температуре 20 °С, затем процеживают и охлаждают [Голунова, 2003, с. 210].

На кафедре технологии продуктов питания были проведены исследования по разработке технологии производства квасов с высокой биологической ценностью.

За контрольный образец была принята рецептура кваса №737 Сборника рецептур блюд и кулинарных изделий для предприятий общественного питания.

Из проведенных выработок базовых рецептур кваса получено, что они подлежат доработке для устранения дефектов, определенных при проведении бракеража. Поэтому нами проведены исследования по поэтапному корректированию количества ингредиентов в составе рецептуры кваса.

Была осуществлена серия экспериментов по установлению дозировок компонентов. В результате исследований получено, что образец клюквенного кваса с сушеными дрожжами имеет более высокую органолептическую оценку.

Устранение сильного дрожжевого запаха путем замены дрожжей прессованных на дрожжи сухие может быть обусловлено наличием в прессованных дрожжах молочнокислых бактерий, что придает этим дрожжам резкий запах и большую активность по сравнению с сушеными дрожжами. В сушеных дрожжах используются чистые культуры дрожжей и бактерий.

В результате проведенных экспериментов разработаны рецептуры напитков — клюквенный и брусничный квасы, по органолептическим и физико-химическим показателям соответствующие требованиям ГОСТ 31494-2012, могут быть рекомендованы для производства напитков с высокой пищевой ценностью.

Для оценки содержания витамина С было произведено количественное определение этого витамина, используя краску Тильманса (2,6-дихлорфенолиндофенол).

Содержание витамина С в сырье клюквы составляет 132 мг/л, в сырье брусники — 176 мг/л, при кипячении мезги количество витамина С снижается из-за воздействия высоких температур. Содержание витамина С в клюквенном квасе — 79,2 мг/л, в брусничном — 105,6 мг/л.

Высокое содержание витамина С в готовом квасе обусловлено внесением в охлажденный раствор сока ягоды, не подвергавшийся тепловой обработке.

Суточная потребность в витамине С составляет от 100 до 120 мг, человек может удовлетворить суточную норму в витамине С, употребив в течение суток всего один литр ягодного кваса (клюквенного или брусничного).

Также пищевую ценность ягодных квасов увеличивает содержание в мякоти брусники и клюквы гликозида вакцинина, который придает этим ягодам специфический горький вкус. При гидролизе вакцинина выделяется бензойная кислота, которая обладает антисептическим действием.

Таким образом, употребление напитков на основе дикоросов — это реальная возможность улучшения структуры питания и поддержания здоровья населения.

Библиографический список

Бондарева М.А., Писарева Е.В. Расширение ассортимента напитков с использованием местного сырья // Актуальные проблемы развития потребительского рынка : сборник тезисов Десятой краевой студ. науч.-практ. конф. (с междун. участ. образов. учреждений Республики Казахстан). Барнаул, 2015. С. 206–209.

Голунова Л.Е. Сборник рецептур блюд и кулинарных изделий для предприятий общественного питания. СПб., 2003. С. 210.

Кощеев А.А. Напитки из дикорастущих плодов и ягод. М., 1991. С. 64.

Миненко И.Ю. Особенности формирования рынка ягод в Алтайском крае // Аграрная наука — сельскому хозяйству. Барнаул, 2011. С. 266–268.

Поверин А.Д. Создание серии функциональных напитков из натурального растительного сырья // Пиво и напитки. 2006. №4. С. 34–35.

Поляков В.А. Плодово-ягодное и растительное сырье в производстве напитков. М., 2011. С. 482–516.

Химический состав пищевых продуктов : в 2 кн. Кн. 1 : Справочные таблицы содержания основных пищевых веществ и энергетической ценности пищевых продуктов / под ред. И.М. Скурихина, М.Н. Волгарева. М., 1987. С. 153.

УДК 637.055

М.В. Полковникова, Л.Н. Азолкина, М.П. Щетинин

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ОБОГАЩЕНИЕ МОДЕЛЬНОЙ СМЕСИ ДЛЯ КУМЫСНОГО ПРОДУКТА ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ

Актуальность ферментированных продуктов заключается в их диетических и лечебных свойствах, приобретенных в результате биотехнологических процессов производства. Представлено исследование процесса обогащения модельной смеси для производства кумысного напитка льняным маслом.

Ключевые слова: льняное масло, кумыс, полиненасыщенные жирные кислоты, модельная смесь, кисломолочные напитки.

M.V. Polkovnikova, L.N. Azolkina, M.P. Schetinin

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

ENRICHMENT MODEL PRODUCT MIX FOR KUMYSNYH POLYUNSATURATED FATTY ACIDS

The urgency of fermented products lies in their dietary and medicinal properties acquired as a result of biotechnological production processes. The article presents a study of the enrichment process for the production of a model mixture kumysnyh drink linseed oil.

Key words: flaxseed oil, mare, polyunsaturated fatty acids, the model mix, milk drinks.

Кисломолочные напитки в течение многих лет широко используются в питании различных народов, населяющих Россию. Актуальность ферментированных продуктов заключается в их диетических и лечебных свойствах, приобретенных в процессе производства.

Польза таких продуктов заключается в легкой усвояемости питательных веществ, образующихся в процессе действия специально внесенных заквасочных культур. Микроорганизмы, входящие в их состав, в процессе сквашивания расщепляют белок и придают ему мелкодисперсную структуру. Также происходит преобразование лактозы: в результате молочнокислого брожения она превращается в молочную кислоту, а при спиртовом брожении образуются спирт и углекислый газ. Образующаяся молочная кислота, диоксид углерода, небольшой процент алкоголя становятся отличным стимулятором для работы пищеварительных желез, повышая перистальтику желудочно-кишечной системы человека.

Немаловажным свойством молочной кислоты является способность препятствовать развитию гнилостной микрофлоры, способствуя увеличению численности полезных бактерий, которые защищают стенки кишечника от различных инфекций.

Правительством Российской Федерации уделяется значительное внимание проблеме туберкулеза в стране. Главной целью реализуемых мероприятий является снижение заболеваемости и смертности населения от туберкулеза. Благодаря проводимой противотуберкулезной работе за последние годы в Российской Федерации удалось остановить рост этих показателей, однако они продолжают оставаться на высоком уровне, отмечается рост распространения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью.

В связи с этим в стране предпринимаются всевозможные меры по профилактике данного заболевания и борьбе с ним, а также проводится интенсивное финан-

сирование проектов по внедрению и производству препаратов и продуктов питания профилактического и диетического назначения. Известно, что к высокоэффективным противотуберкулезным средствам относится кумыс, являющийся продуктом лечебно-профилактического назначения.

Последнее время возрос интерес потребителя к национальным кисломолочным продуктам и напиткам, основной особенностью которых является высокая биологическая ценность исходного сырья в совокупности с применением многокомпонентных симбиотических заквасок [Яблонский, 2013, с. 82]. Натуральным сырьем для производства таких напитков, как тан, айран, катык, кумыс, являются козье или кобылье молоко. Например, кумыс — это кисломолочный напиток, приготовленный из молока кобылиц. Он пользуется заслуженной известностью в качестве лечебного и питательного продукта при заболеваниях органов дыхания, а также пищеварительного тракта. Благодаря биохимическому составу кобыльего молока и применяемой бактериальной закваске этот продукт представляет собой ценный лечебно-профилактический напиток.

В зависимости от закваски, длительности и условий сквашивания кумыс делится на три категории: слабый, средний и крепкий. Крепкий кумыс отличается повышенным содержанием спирта, слабый, наоборот.

Обычно кумыс содержит от 0,2 до 2,5% этилового спирта. Крепкий натуральный кумыс (только из кобыльего молока) может содержать до 4,5% спирта. Кислотность составляет от 60 до 120 °Т [Лойко, 2013, с. 57].

Микроорганизмы, сквашивающие кобылье молоко, кроме молочной кислоты, алкоголя и углекислоты, которая придает кумысу характер освежающего шипучего напитка, обильно выделяют целый ряд ароматических веществ, синтезируют витамины группы С и В. Кумыс обладает выраженной антимикробной активностью в связи с наличием в нем антибиотических веществ, вырабатываемых микроорганизмами при брожении, и способен стимулировать биологические процессы в организме. Антибиотические вещества кумыса повышают сопротивляемость организма к инфекции, а молочнокислые бактерии создают благоприятную для организма микрофлору кишечника и подавляют в нем гнилостные процессы, ведущие к самоотравлению организма.

При кумысолечении значительно улучшаются аппетит, секреция желудочного сока и всасывание пищи, повышается усваиваемость белков и жиров пищи, нарастает вес. Кумыс способен до некоторой степени замещать соляную кислоту при недостатке ее в желудочном содержимом.

Кумысолечение издавна широко используется при лечении некоторых форм туберкулеза, а также при упадке аппетита после тяжелых, изнуряющих болезней, при малокровии, болезнях желудка, для восстановления нормальной микрофлоры кишечника

В последнее время наблюдается рост спроса на целебный напиток — кумыс, его производство становится все более актуальным и рентабельным. Повышение потребительских качеств кумыса актуально в связи с повышающимся интересом к потреблению полноценных и экологически чистых продуктов. Многочисленными исследованиями установлено, что лечебное действие напитка на организм в большей степени зависит от состава самого кобыльего молока, а также технологии его переработки.

Выработка кумыса из кобыльего молока ограничена районами табунного коневодства России, в остальных местностях кумыс не вырабатывают из-за отсутствия сырья и невозможности его длительного хранения, в то время как потребность в кумысе существует.

Разработка технологии производства кумыса из адаптированного коровьего молока, максимально приближенного по составу к кобыльему, имеет медико-социальное значение. Создание технологии кумысного напитка, наряду с организацией промышленного производства, открывает широкие перспективы его использования в качестве эффективного функционального продукта.

Кобылье молоко имеет резкие отличия от коровьего по химическому составу и свойствам. Содержание сухих веществ кобыльего молока понижено до 10,3% в среднем с колебаниями от 8,4 до 12,3%. Это обусловлено пониженным содержанием жира (от 1,3 до 2,5%), белка (от 1,5 до 2,72), а также минеральных веществ (от 0,27 до 0,5%). Но оно содержит в 1,5 раза больше кобальта, в 2,5 раза больше меди. В то же время содержание лактозы повышено до 5,8% в среднем. Жировые шарики кобыльего молока более мелкие, чем у коровьего, средний диаметр их — 2,1 мкм, шарики диаметром до 3 мкм составляют 89%, от 3 до 6 мкм — 9% (дипломная работа М.В. Полковниковой на тему «Разработка технологии кисломолочного продукта с медом», научный руководитель Л.Н. Азолкина).

В 100 мл кобыльего молока содержится до 20 мг аскорбиновой кислоты, до 0,013 мг витамина А. Молочный жир кобыльего молока имеет низкую температуру плавления, в отличие от коровьего. Вследствие тонкой дисперсии жировой фазы и низкой температуры плавления и отвердевания молочный жир очень легко усваивается. Жир кобыльего молока при комнатной температуре имеет полужидкую консистенцию в связи с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот — 62%, в том числе мононенасыщенных — 26%; особенно много полиненасыщенных — 36%. Их количество почти в 10 раз выше, чем в коровьем. Молочный жир кобыльего молока богат кислотами семейства омега-3 и омега-6, которые тормозят развитие туберкулезных бактерий, в то время как в жире коровьего молока они энергично развиваются. В то же время масляной и капроновой кислот в молоке кобылиц не обнаружено, массовая доля короткоцепочечных жирных кислот (C_4-C_{10}) понижена и составляет около 9%. Особенно мало летучих растворимых в воде жирных кислот, число Рейхерта — Мейссля составляет всего лишь 4,84, что в 5 раз ниже, чем в коровьем молочном жире. Закономерно, что число омыления несколько понижено по сравнению с коровьим молочным жиром и равно 208 [Твердохлеб, 2006, с. 243].

В процессе разработки кумысного напитка на основе модельной смеси рассматривалась ее адаптация к кобыльему молоку по жирокислотному составу. Было предложено обогатить смесь путем внесения в нее льняного масла.

По биологической ценности масло из семени льна занимает первое место среди других пищевых растительных масел и содержит массу полезных для организма веществ (полиненасыщенные кислоты, витамины F, A, E, B, K, насыщенные жирные кислоты — 10% состава). Масло из семени льна является уникальным источником ценных полиненасыщенных жирных кислот омега-3 и омега-6. В масле из семян льна содержание омега-3 в 2 раза больше, чем в рыбьем жире, и значительно выше, чем в остальных продуктах питания.

В подготовленную композиционную смесь вносилось льняное масло, затем оценивались физико-химические и органолептические особенности продукта. В качестве эталона рассматривалось кобылье молоко.

Соотношение ненасыщенных жирных кислот в кобыльем молоке и смеси представлено на рисунке 1. Согласно полученным результатам, можно сделать вывод о некотором увеличении полиненасыщенных жирных кислот в смеси при внесении льняного масла. Большее количество льняного масла приводит к ухудшению органолептической оценки смеси.

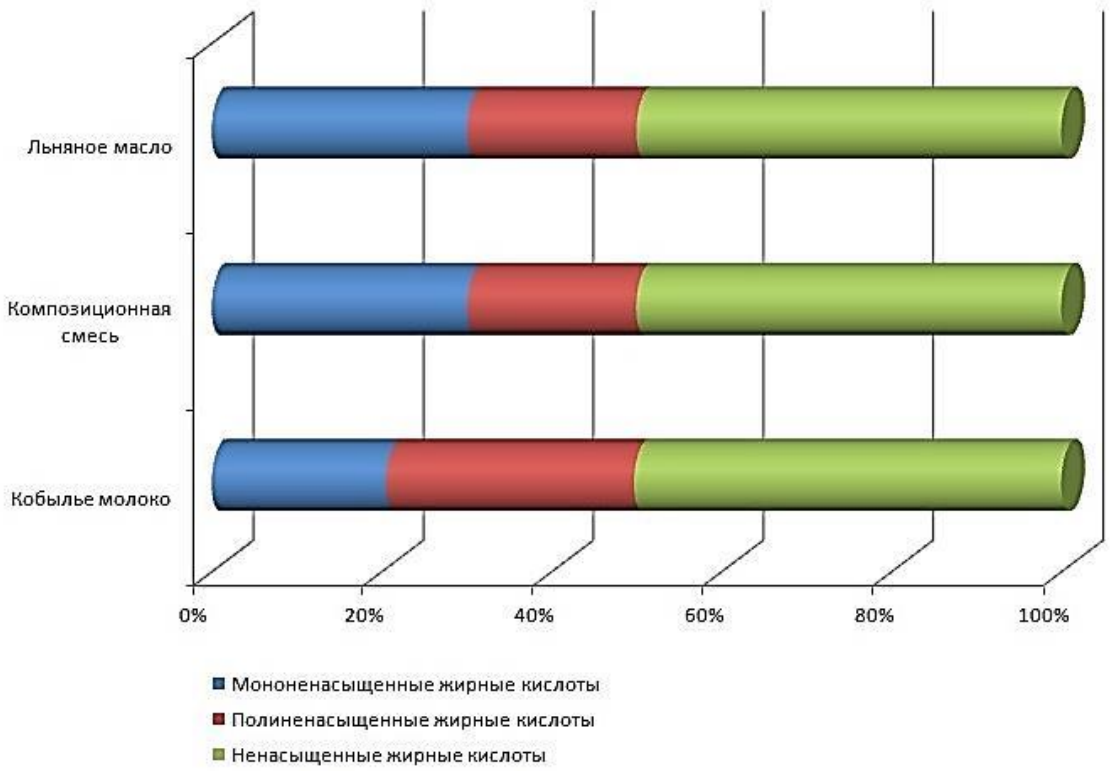


Рис. 1. Содержание ненасыщенных жирных кислот в кобыльем молоке и составленной смеси

Исследование влияния льняного масла на органолептические характеристики образца представлены на рисунке 2.

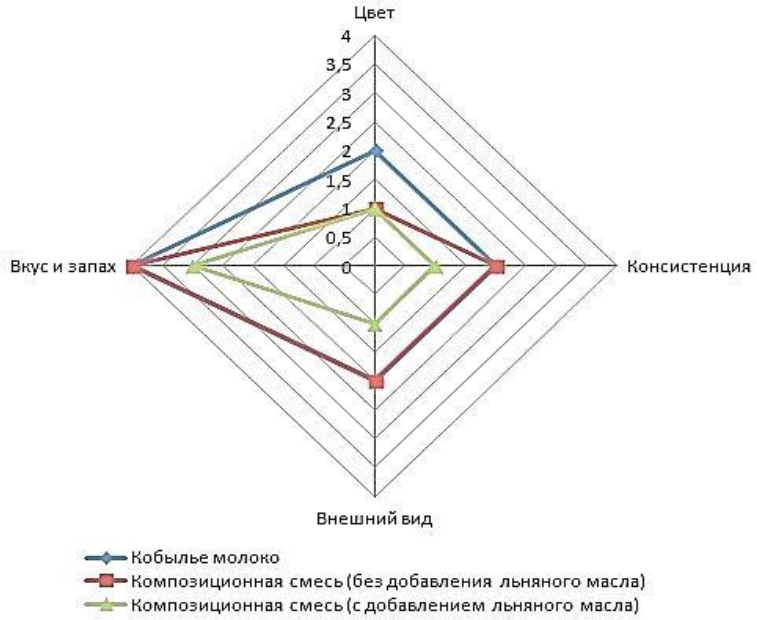


Рис. 2. Органолептическая оценка исследуемой композиционной смеси

Органолептическая оценка показала, что образец с льняным маслом имел менее однородную консистенцию, также отличался вкус и аромат смеси. Вариант обогащения композиционной смеси полиненасыщенными жирными кислотами путем внесения льняного масла интересен со стороны как компонентного состава смеси, так и доступности данного ингредиента.

В дальнейшем планируется исследование внесения других компонентов в смесь для более полного и точного приближения ее состава к эталону — кобыльему молоку.

Библиографический список

Лойко Н.Г., Кареткин Б.А., Симон Н.А., Шаненко Е.Ф., Пичугина Т.В., Гриневич А.И., Ганина В.И. Пробиотические продукты, новые приемы повышения качества // Молочная промышленность. 2013. №10. С. 57–60.

Твердохлеб Г.В. Химия и физика молока и молочных продуктов. М., 2006. 360 с.

Яблонский Ю.В., Азолкина Л.Н. Кисломолочные напитки на основе природных симбиозов микроорганизмов // Вестник алтайской науки. 2013. №2-1. С. 82–86.

УДК 637.146:641.562

Д.А. Пронина, Л.Н. Азолкина, М.П. Щетинин

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

МЯГКИЙ ТВОРОГ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Творог является одним из первых кисломолочных продуктов в рационе ребенка. Использование этого продукта позволяет в небольшом объеме пищи дать малышу достаточное количество белка, а также кальция и фосфора. Детский творог должен обладать мягкой консистенцией и пониженной кислотностью. Он не должен вызывать раздражения слизистой кишечника. В работе рассматривается возможность использования элементов технологии национального норвежского продукта — скир. Скир имеет слегка кисловатый молочный вкус с оттенком остаточной сладости и густую неоднородную консистенцию.

Ключевые слова: детский творог, консистенция, сывороточные белки, скир.

D.A. Pronina, L.N. Azolkina, M.P. Shetinin

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

SOFT CHEESE FOR BABY FOOD

Cheese is one of the first of dairy products in the diet of children. Use of this product allows a small amount of food to the baby sufficient protein and calcium and phosphorus. Children should have a soft curd consistency and low acidity. It should not cause irritation of the intestinal mucosa. The paper considers the possibility of using the elements of the Norwegian national technology product — Skira. Skira has a slightly sour milk taste, with a hint of residual sweetness and thick non-uniform consistency

***Key words*:** children's cheese, texture, serum proteins, Skira.

Рациональное питание является одним из наиболее важных и эффективных предпосылок, обеспечивающих здоровье и гармоничное развитие ребенка. Правильное питание повышает устойчивость организма к различным заболеваниям.

Особое место в питании детей раннего возраста занимают кисломолочные продукты, они обладают важными лечебно-диетическими свойствами, делающими их весьма полезными как для детей, так и для взрослых.

Творог является полноценным источником белка, который легко усваивается и, как правило, не вызывает аллергических реакций. Белок в организме человека — это основной материал, из которого строятся все клетки, ферменты и иммунные тела, и благодаря им вырабатывается стойкость к заболеваниям. Человек получает

незаменимый «строительный материал» из продуктов питания. В организме белок расщепляется до аминокислот, а из них создает молекулы новых белков, присущих только нашему организму [Анастасевич, 2006, с. 66].

Также творог богат витаминами группы В: B_{12}, B_2, фолиевой кислотой, в нем присутствуют, в значимых для организма человека количествах, витамины B_6 и ниацин (РР).

Творог появляется одним из первых кисломолочных продуктов в рационе ребенка — в качестве дополнительного источника белка, а также кальция и фосфора. Использование этого продукта позволяет в небольшом объеме пищи дать малышу достаточное количество белка. По назначению врача творог может быть введен в рацион ребенка с четвертого месяца жизни. В отличие от обычного творога, детский обладает более мягкой консистенцией, что немаловажно для малышей, не умеющих жевать. Еще одно преимущество детского творога — пониженная кислотность, он не должен вызывать раздражения слизистой кишечника. Детский творог должен быть адаптирован к особенностям организма ребенка, отличающегося физиологической незрелостью желудочно-кишечного тракта.

Творог детский — пастообразный белковый кисломолочный продукт, имеющий чистый кисломолочный вкус и запах, однородную, нежную, мажущую консистенцию. Цвет молочно-белый или кремовый, равномерный по всей массе. От обычного творога детский творог отличается тем, что имеет более низкую кислотность, повышенное содержание влаги и более высокие санитарно-гигиенические показания. Содержание влаги не более 82%, титруемая кислотность не выше 150 °Т.

Разрабатываемый кисломолочный продукт для детского питания по своим органолептическим и физико-химическим показателям близок к твороге для питания детей раннего возраста.

На кафедре технологии продуктов питания АлтГТУ им. И.И. Ползунова и в лабораториях на базе ОАО «Модест» были проведены исследования по разработке технологии и изучению физико-химических показателей творога на основе скандинавского кисломолочного продукта.

В основу изучаемой технологии взяли принцип получения национального норвежского продукта — скир. Скир (skyr) — разновидность творога или йогурта. В нем содержатся бактерии, аналогичные йогуртовой закваске. Скир имеет слегка кисловатый молочный вкус с оттенком остаточной сладости. В связи с низким содержанием жира — 0,2%, скир считается действительно полезным продуктом: в нем нет ни стабилизаторов, ни сухого обезжиренного молока, используемого при приготовлении фабричных обезжиренных йогуртов.

Данный продукт имеет густую, однако неоднородную консистенцию. Вкус чистый, кисломолочный. В основу получения данного продукта идет обезжиренное молоко. На рисунке 1 представлена блок-схема выработки скира.

Сквашенная часть обезжиренного молока выполняет основную функцию подкислителя в термокислотном сквашивании молока. К этой части молока предъявляются следующие требования:

- уровень кислотности не выше 80 °Т;
- время сквашивания не более 5 ч;
- получение однородного сгустка, плотного сгустка.

При проведении эксперимента были рассмотрены насколько видов и комбинаций заквасок:

- Lactobacterium bulgaricum и Streptococcus thermophilus;
- Lactobacterium bulgaricum и Lactococcus lactis;
- Lactococcus lactis и Streptococcus thermophilus [Семенихина, 2013, с. 180].

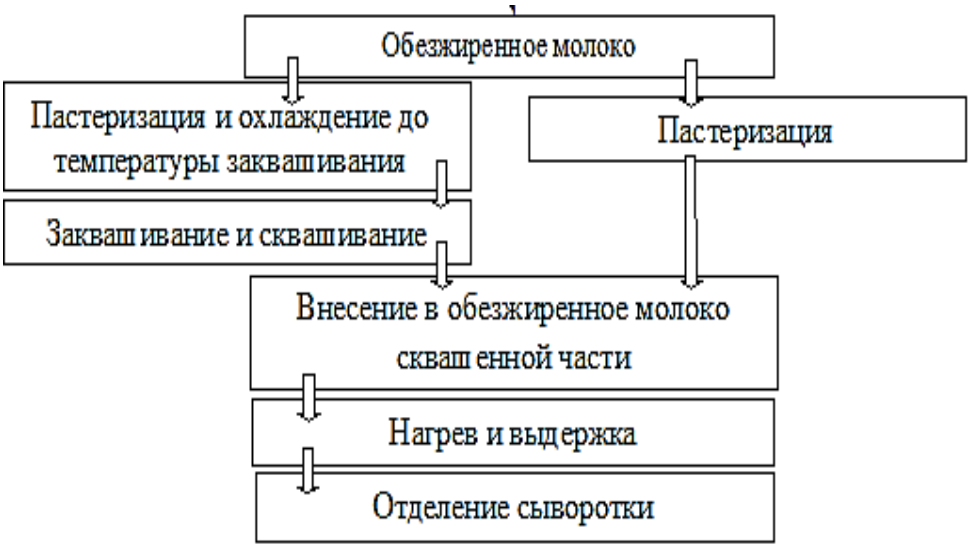


Рис. 1. Блок-схема выработки скира

В полученных сгустках определили органолептические и физико-химические показатели. Результаты представлены в таблице.

Показатель	Lb. bulgaricum, St. thermophilus	Lb. bulgaricum, Lac. lactis	Lac. Lactis, St. thermophilus
Консистенция и внешний вид	Однородная, глянцевая	Однородная, матовая	Однородная, глянцевая
Отделение сыворотки	Есть незначительное	Нет	Есть незначительное
Время сквашивания, ч	4	4,5	10
Кислотность, ^{0}Т	60	62	61
pH	4,7	4,68	4,72

Наиболее подходящей комбинацией заквасочных культур, удовлетворяющих поставленным требованиям, является закваска, состоящая из Lb. bulgaricum и St. thermophilus. Благодаря Lb. bulgaricum время сквашивания сокращается до 4 часов, а St. thermophilus дает ровный сгусток и чистый кисломолочный вкус.

После внесения сквашенной части в нагретое обезжиренное молоко следующим технологическим этапом является нагрев смеси до температуры варки. Нагрев нужен для ускорения процесса отделения сыворотки. При этом используются не прямой нагрев, а пар или горячая вода, которые подаются в межстенное пространство творожной ванны. В зависимости от того, какова должна быть финальная структура продукта, регулируются время и температура нагрева. В ходе проведения экспериментов было выявлено влияние температуры на органолептические показатели готового продукта.

Результаты органолептической характеристики образцов продукта выработанных при разных температурах варки, представлены на рисунке 2.

При понижении температуры продукт получается влажный и плохо отдает сыворотку. Повышение температуры выше 60 ^{o}С делает продукт сухим, с резинистой и грубой консистенцией.

Еще одним важным температурным показателем является температура обезжиренного молока в момент внесения сквашенной части. Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что при увеличении температуры обезжиренного

молока в момент внесения сквашенной части происходит снижение титруемой кислотности в готовом продукте.

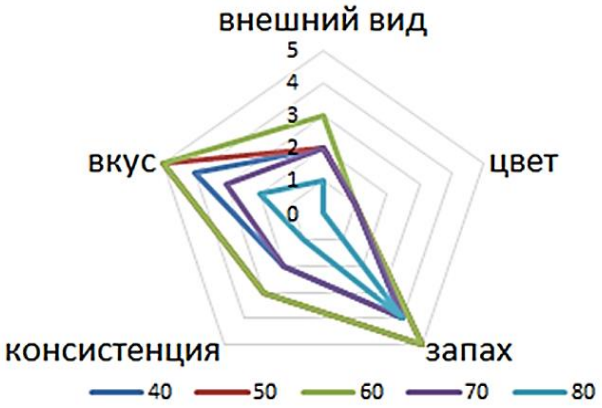


Рис. 2. Органолептическая характеристика образцов продукта, выработанных при разных температурах варки

Анализируя и обобщая данные, полученные при исследовании физико-химических характеристик и биологической ценности исследуемых образцов, можно сделать вывод, что применение такой технологии позволит обеспечить получение продукта с заданными свойствами в соответствии с медико-биологическими и технологическими требованиями.

Проведенные эксперименты позволили получить продукт с повышенной пищевой ценностью за счет использования сывороточных белков молока, а также внесение яблочного пюре в творожок позволит придать продукту функционально-профилактическую направленность за счет оптимизации в первую очередь количественного и качественного состава белкового и углеводного компонентов.

Библиографический список

Анастасевич Л.А., Бельмер С.В. Научные проблемы создания продуктов для детского питания. М., 2006.

Семенихина В.Ф., Рожкова И.В., Абрамова А.А. Подбор бактериальных культур для производства йогурта с длительным сроком хранения // Вестник Орел ГАУ. 2013. №1. С. 180–183.

Скир (skyr) — творог? Рецепт приготовления // Edaia.ru [Электронный ресурс]. URL: http://edaia.ru/442-skir-skyr--tvorog-retsept-prigotovleniya.html.

УДК 547.992.3

А.В. Протопопов, М.В. Клевцова, А.В. Ворошилова, С.А. Бобровская

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Россия, Барнаул)

МОДИФИКАЦИЯ ЛИГНИНА АРОМАТИЧЕСКИМИ АМИНОКИСЛОТАМИ

Исследована возможность химической модификации сульфатного лигнина ароматическими аминокислотами. Рассмотрены кинетические закономерности реакции ацилирования и определены термодинамические параметры активированного комплекса реакции ацилирования и общая энергия активации процесса.

Ключевые слова: лигнин, продукты лигнина, ацилирование.

A.V. Protopopov, M.V. Klevtcova, A.V. Voroshilova, S.A. Bobrovskaya
Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

MODIFICATION LIGNIN AROMATIC AMINOACIDS

Studied the possibility chemical modification of sulfate lignin aromatic amino acids. The kinetics of the reaction of acylation and the thermodynamic parameters of the acylation reaction of the activated complex and the overall activation energy.

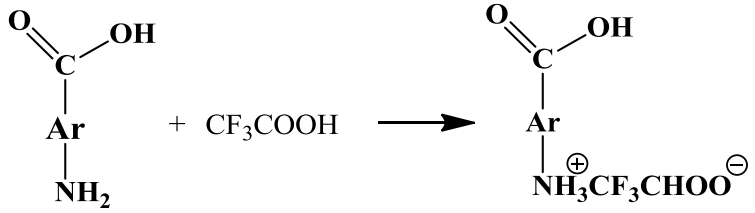
Key words: lignin, acilation.

Несмотря на широкую область применения лигнина, как в исходной форме, так и в модифицированной, до сих пор остается проблематичной крупнотоннажная переработка и утилизация технических лигнинов. В настоящее время исследования в области утилизации отходов деревоперерабатывающей промышленности связаны с поиском новых, более дешевых и менее энергоемких способов переработки лигнина, а также новых областей применения этого материала, как в первоначальной, так и измененной формах [Манушин, Никольский, Минскер, 2002].

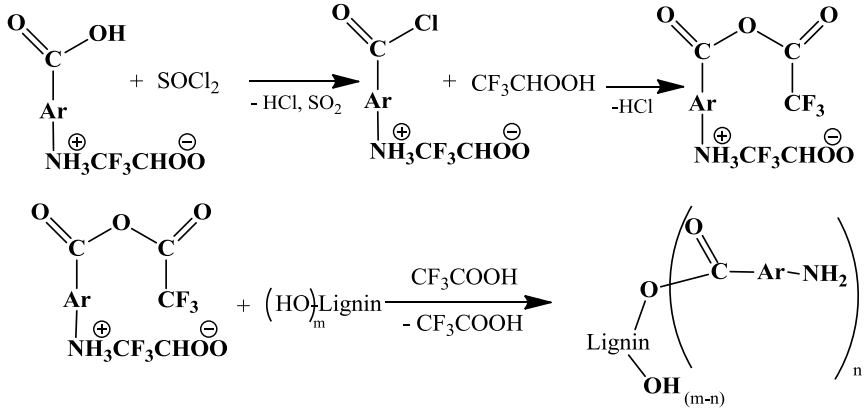
Ранее нами [Протопопов, Коньшин, Чемерис, 2005; Протопопов, Коньшин, Чемерис Н.А., Чемерис М.М., 2011] была показана возможность синтеза сложных эфиров целлюлозы с аминокислотами из лигноцеллюлозного материала. Целью настоящей работы являлось изучение процесса ацилирования лигнина ароматическими аминокислотами (*п*- [I], *о*- [II] и *м*-аминобензойная [III]) в присутствии трифторуксусной кислоты (ТФУК) и тионилхлорида (ТХ).

Процесс ацилирования можно представить следующими стадиями:

- взаимодействие аминокислоты с ТФУК при интенсивном перемешивании;



- добавление тионилхлорида к смеси и выдерживание при постоянной температуре до полного взаимодействия:



По аналогичной схеме проведены синтезы без использования трифторуксусной кислоты с применением толуола как инертного растворителя. По данным химического анализа на содержание связанной аминокислоты рассчитано количество связанных гидроксильных групп в лигнине, представленное в таблице 1. В ходе проведения анализа на содержание алифатических и ароматических гидроксильных групп было установлено, что общее количество гидроксильных групп в сульфатном лигнине равно 11,8%, при этом первичных (алифатических) ОН-групп в среднем составляет 9,1%, а ароматических (кислых) гидроксильных групп — 2,7%.

Таблица 1

Количество связанных гидроксильных групп в продуктах лигнина, %

Кислота в модифицированном лигнине	Время проведения синтеза, ч	В среде ТФУК				В среде толуола				
		Температура синтеза, °С				Температура синтеза, °С				
		25	35	45	55	25	35	45	55	65
I	1	16.12	14.95	13.68	11.44	0,44	0,55	0,66	0,73	1,05
	2	22.72	16.74	14.06	12.02	0,83	1,24	1,39	2,03	2,12
	3	31.91	21.76	16.34	12.84	0,88	1,35	2,61	2,88	2,76
	5	32.42	23.21	21.14	16.74	2,49	2,89	2,93	3,15	3,18
II	1	2.17	6.83	8.44	9.20	-	0,53	2,07	3,37	3,61
	2	9.40	10.75	13.31	14.85	-	1,43	2,22	3,76	4,14
	3	13.97	15.06	16.57	17.15	-	2,22	2,68	3,84	4,49
	5	19.17	21.61	26.31	31.90	-	2,53	3,85	4,56	4,87
III	1	0.27	0.59	0.66	0.69	-	1,76	2,14	3,49	5,22
	2	1.88	6.82	9.47	9.61	-	1,80	3,16	4,69	6,90
	3	10.98	11.6	12.09	13.04	-	2,45	3,69	6,69	7,51
	5	16.57	19.57	19.85	20.41	-	2,46	4,06	6,83	8,35

Приведенные данные показывают, что с увеличением температуры и продолжительности синтеза возрастает количество связанных гидроксильных групп в лигнине для продуктов взаимодействия с *о*- и *м*-аминобензойными кислотами. В то же время для продуктов взаимодействия с *п*-аминобензойной кислотой увеличение температуры синтеза приводит к снижению степени замещения при проведении реакции в среде трифторуксусной кислоты (о чем свидетельствует отрицательный температурный коэффициент реакции) [Азаров, Буров, Оболенская, 1999]. Как видно из полученных данных, для реакции в среде трифторуксусной кислоты количество прореагировавших гидроксильных групп лигнина больше исходного количества свободных алифатических и ароматических групп в чистом лигнине. Это связано с тем, что реакция протекает не только по свободным гидроксильным группам, но и по метоксильным и простым эфирным связям, которые становятся неустойчивыми в процессе высокотемпературного ацидолиза [Шорыгина, Резников, Елкин, 1976]. Высокое сродство ароматических аминокислот со структурными единицами лигнина обуславливает значительную степень превращения в полученных продуктах. В ряду увеличения степени превращения ароматические кислоты согласуются с возрастанием отрицательного индукционного эффекта.

Анализ ацилированного лигнина методом ИК-спектроскопии (KBr. ν. $см^{-1}$) показал наличие полосы поглощения в области 1730–1750 $см^{-1}$, имеющую большую интенсивность, характеризующую валентные колебания СО-групп в сложноэфирных связях, что подтверждает образование продуктов лигнина с высоким содержанием в связанном виде аминокислоты.

Анализ твердофазного ЯМР ^{13}C-спектров (75 МГц. δ, м.д.) позволяет выделить следующие сигналы: 170 м.д — появляется сигнал атома углерода карбонильной группы, характерной для сложноэфирной связи, которая не наблюдается в исходном препарате лигнина; 105 — 75 м.д. — CH_2O алифатическая, 64–50 м.д. — метоксильная связь, эти сигналы исчезли в ацилированном ароматическими аминокислотами лигнине, что свидетельствует о протекании реакции ацилирования по простым эфирным связям.

На основании данных, полученных при расчете кинетических закономерностей по уравнению Ерофеева — Колмогорова, определены термодинамические па-

раметры переходного комплекса реакции ацилирования лигнина с применением уравнения Эйринга.

Таблица 2

Значения термодинамических и кинетических параметров реакции ацилирования лигнина ароматическими аминокислотами

Реакционная среда	Кислота в модифицированном лигнине	Константа скорости реакции, $K \cdot 10^4$, $с^{-1}$					Термодинамические параметры активированного комплекса		
		25	35	45	55	65	ΔH, кДж/моль	ΔS, Дж/(моль·К)	ΔG, кДж/моль
ТФУК	I	0,20	0,16	0,15	0,11	-	-108	-679	105
	II	0,018	0,039	0,068	0,14	-	313	612	121
	III	0,002	0,0014	0,001	0,0004	-	874	2396	124
Толуол	I	1,88	4,01	4,57	4,97	5,34	-38, 7	-449,7	120,3
	II	-	3,96	7,22	26,59	168,87	-60,5	-506,9	160,6
	III	-	8,13	8,34	13,07	22,91	-12, 7	-366,0	114,5

Для реакции ацилирования лигнина *о*- и *м*-аминобензойной кислотами полученное значение энтальпии активации (табл. 2) свидетельствует о быстром достижении переходного состояния активированного комплекса. В данном случае, вероятно, происходит образование межмолекулярных водородных связей аминокислоты с макромолекулой лигнина, сопровождаемое разрушением лигноуглеводных связей. Значение энтропии активации указывает на энергетическую устойчивость переходного комплекса.

Полученное значение энтальпии активации для *п*-аминобензойной кислоты указывает на энергетические затраты, необходимые для диффузии ацилирующего агента к гидроксилам лигнина и образования переходного комплекса. Исходя из полученного значения энтропии активации можно предположить достаточно быстрое разрушение активированного комплекса с переходом в продукты реакции.

Таблица 3

Предельная адсорбция насыщения и энергия адсорбции растительных материалов и препаратов лигнина с различными аминокислотами

Адсорбент	Cu^{2+}		Pb^{2+}		Th^{4+}	
	A_{max}, мкг/г	$E_{адс}$, Дж	A_{max}, мкг/г	$E_{адс}$, Дж	A_{max}, мкг/г	$E_{адс}$, Дж
Сульфатный лигнин	8.0	2413	19.5	2285	169	2008
Лигнин, модифицированный кислотой:						
I	38.5	3972	30.3	4813	428	1479
II	18.4	6253	67.4	1648	251	1177
III	13.5	2542	70.1	1971	199	621

Для полученных модифицированных продуктов лигнина в среде трифторуксусной кислоты, а также сульфатного лигнина были изучены сорбционные свойства на ионы поливалентных металлов: Cu^{2+}, Pb^{2+}, Th^{4+}. Предельная адсорбция насыщения и энергия адсорбции для различных ионов была рассчитана по уравнению Дубинина — Радушкевича.

Экспериментальные изотермы были обработаны в рамках модели сорбции ТОЗМ. Более высокие значения сорбционной емкости для модифицированных препаратов лигнина обусловлены большим количеством аминогрупп связанной ароматической аминокислоты по сравнению с количеством гидроксильных групп в исходном лигнине.

Рассчитанные энергии адсорбции в ряду увеличения радиуса ионов согласуются с рядами Гофмейстера. Данное обстоятельство свидетельствует о применимости ТОЗМ для лигнина и его производных.

Библиографический список

Азаров В.И., Буров А.В., Оболенская А.В.. Химия древесины и синтетических полимеров. СПб., 1999, 628 с.

Манушин В.И., Никольский К.С., Минскер К.С. Целлюлоза, сложные эфиры целлюлозы и пластические массы на их основе. Владимир, 2002. 107 с.

Протопопов А.В., Коньшин В.В., Чемерис М.М. Ацилирование древесины осины и целлюлозы *n*-аминобензойной кислотой в трифторуксусной кислоте и тионилхлориде // ЖПХ. 2005. Т. 78, вып. 10. С. 1748–1749.

Протопопов А.В., Коньшин В.В., Чемерис Н.А., Чемерис М.М. // ЖОХ. 2011. Т. 81, вып. 7. С. 1539.

Шорыгина Н.Н., Резников М.В., Елкин В.А. Реакционная способность лигнина. М., 1976. 368 с.

УДК 637.146.1.03

О.Е. Рощупкина, Л.Н. Азолкина, М.П. Щетинин

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТРУКТУРООБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ СМЕТАНЫ

Улучшение консистенции низкожирной сметаны происходит при внесении в определенном количестве сывороточных белков. Специальным образом готовится паста из альбумина, которая вносится в сливки перед заквашиванием. Также применяются специальные микроорганизмы, выделяющие полисахариды, которые снижают синерезис в сметане.

Ключевые слова: консистенция, сметана, альбумин, сывороточные белки, паста, полисахариды.

O.E. Roshchupkina, L.N. Azolkina, M.P. Shetinin

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

THE USE OF STRUCTURE-FORMING PROPERTIES OF WHEY PROTEINS IN THE PRODUCTION OF SOUR CREAM

Improved low-fat sour cream consistency occurs when making a certain amount of whey protein. Specially preparing a paste of albumin, which is entered into the cream before fermentation. Also, using special microorganisms that produce polysaccharides that reduce syneresis in sour cream.

***Key words*:** consistency, cream, albumin, serum proteins, paste, polysaccharides.

Сметана является национальным русским продуктом, который пользуется спросом у различных слоев населения. Вырабатывается данный продукт путем сквашивания пастеризованных сливок чистыми культурами молочнокислых стрептококков с последующим созреванием полученного сгустка.

Долгие годы сметану изготовляли только в нашей стране, в странах Европы она известна под названием «русские сливки», «кислые сливки».

Сметана имеет чистый кисломолочный вкус, с выраженным привкусом пастеризации, однородную, в меру густую, без крупинок жира и белка консистенцию, вид глянцевитый, белый цвет с желтоватым оттенком.

Повышенная пищевая ценность обусловлена компонентным составом сметаны и биохимическими изменениями, произошедшими в процессе сквашивания сливок.

Густая и достаточно плотная консистенция сметаны является ее необходимым атрибутом — широко рекламируемым и характеризующимся «удержанием ложки в сметане». В сметане — особенно домашней, «густота» достигается за счет повышенного содержания жировой фазы, но сейчас не меньшим спросом пользуются низкожирные сорта: 10% сметана получила название диетической и рекомендуется тем, кто следит за своим здоровьем и весом.

Создание сметаны, которая сочетает в себе невысокое содержание жира и плотную, густую консистенцию, напоминающую высокожирную сметану, возможно без использования искусственных добавок, загустителей, стабилизаторов, с помощью увеличения сухих веществ за счет внесения альбумина, подготовленного специальным способом.

В результате улучшаются структурно-механические свойства сгустка, уменьшается отделение сыворотки, благодаря чему продукт имеет богатую и плотную текстуру, сравнимую с десертом при низком содержании массовой доли жира, что позволяет отнести данный продукт к диетическим.

Внесение специально подготовленного альбумина имеет преимущество перед увеличением сухих веществ сметаны за счет сухого обезжиренного молока, которое очень часто дает пороки консистенции в сметане, а именно — мучнистый привкус и крупку.

Сывороточные белки за счет партикуляции придают продукту ощущение жирности и полноты вкуса.

В результате обогащения продукта сывороточным белком не только улучшается консистенция готового продукта, но и повышается его пищевая ценность.

Сывороточные белки могут служить дополнительным источником аминокислот, что позволяет отнести их к полноценным белкам, используемым для структурного обмена.

В альбумине содержание триптофана в четыре раза больше, чем в казеине, а содержание незаменимой серосодержащей аминокислоты цистеина в альбумине — в 19 раз больше, чем в казеине [Мусина, 2014, с. 159].

На кафедре технологии продуктов питания Алтайского государственного технического университета ведутся работы по данному направлению. Из альбумина предварительно готовится паста, которая получается в результате пропускания его в смеси с молоком или сливками через диспергатор — пастеризатор, которая затем вносится в нормализованную смесь перед заквашиванием.

В ходе исследования было выявлено, что лучшими органолептическими показателями обладает продукт с добавлением альбуминовой пасты в количестве 30%. Большее количество внесенной альбуминовой пасты отрицательно сказывается на органолептических показателях продукта — чувствуется крупитчатость и чрезмерный запах альбумина, с количеством пасты альбумина менее 30% консистенция продукта получается недостаточно плотной.

Органолептическая характеристика продукта отражена на рисунке 1.

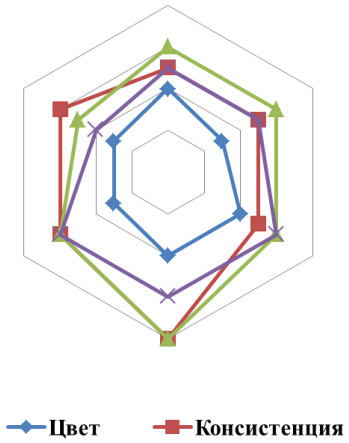


Рис. 1. Органолептические показатели сметаны с разными массовыми долями альбумина

Внесение альбумина улучшает консистенцию готового продукта, но при этом несколько снижаются его вкусовые и ароматические характеристики.

Эту проблему решали подбором заквасочной микрофлоры, которая обеспечивает ароматообразование сметаны. Кроме этого, улучшение консистенции готового продукта возможно не только за счет применения альбумина, но и благодаря использованию заквасок, содержащих штаммы, образующие экзополисахариды — естественные загустители, которые могут заменить стабилизаторы растительного и животного происхождения, в результате чего повышается вязкость, влагоудерживающая способность и эффективная тиксотропность сгустка [Брусиловский, 1982, с. 128]. В этом случае их дозировка значительно ниже, чем при выработке сметаны без альбумина.

В ходе работы были исследованы несколько комбинаций заквасок. Одной из основных характеристик сгустка является удержание воды, выражающееся степенью синерезиса. Отделение сыворотки возможно при обычном нарушении сгустка, так как этот продукт характеризуется коагуляционно-конденсационной пространственной структурой, обладающей слабой тиксотропностью.

Проведены исследования степени синерезиса продукта, результаты которых представлены на рисунке 2.

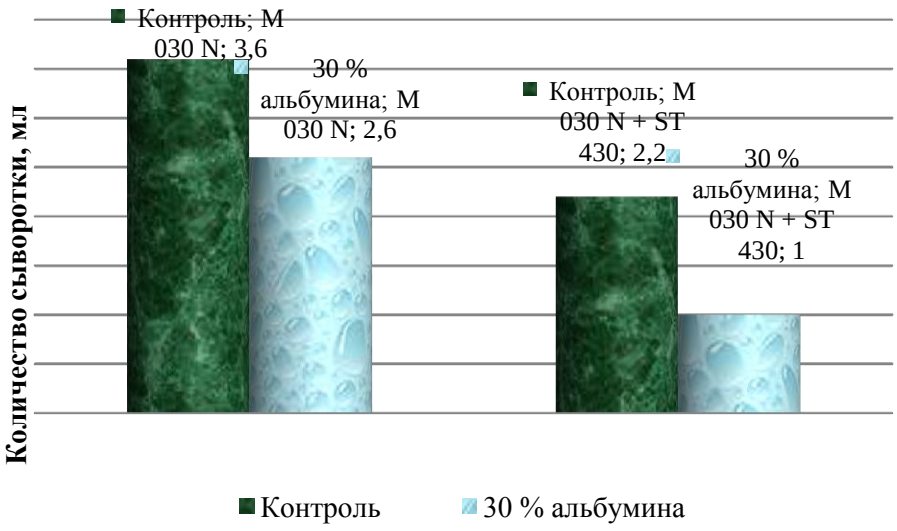


Рис. 2. Степень синерезиса низкожирной сметаны при применении разных видов закваски

Выбранная комбинация заквасок — M 030 N и ST 430 — обеспечивает лучшую текстуру ферментированного молочного продукта, а именно — умеренно вязкую, однородную, с хорошей влагоудерживающей способностью.

Проведенные исследования показали, что благодаря повышению сухих веществ с помощью сывороточного белка — альбумина и использованию выбранной комбинации заквасок, возможно создание низкожирной сметаны отличного качества без применения загустителей и стабилизаторов.

Было установлено, что при внесении дозы альбумина более 30%, органолептические показатели ухудшаются — наблюдается крупчатость и излишний привкус альбумина, в результате уменьшения дозы альбумина сгусток получается недостаточно плотным. При внесении оптимальной дозы альбумина образец обладает отличной текстурой — умеренно вязкой, однородной, с большой влагоудерживающей способностью и тиксотропностью сгустка.

Нормальное функционирование молочной отрасли требует повышения эффективности производства. В первую очередь это касается ресурсосбережения, так как затраты на сырье достигают 80% себестоимости молочных продуктов.

Эффективность использования сырья может быть решена за счет использования молочного альбумина, полученного из молочной сыворотки, ресурсы которой в нашей стране превышают 3,5 млн т в год [Катушонок, 2014, с. 468].

Следовательно, актуальными являются разработка и включение в состав рациона питания низкожирной сметаны, обогащенной альбумином, доступной широким слоям населения, что способствует удовлетворению потребности в «здоровых» продуктах питания.

Библиографический список

Брусиловский Л.П., Банникова Л.А., Вайнберг И.А. Управление процессами культивирования микроорганизмов заквасок и кисломолочных продуктов. М., 1982. 128 с.

Катушонок И.Г., Азолкина Л.Н., Щетинин М.П. Новые возможности переработки альбуминной массы // Новое в технологии и технике функциональных продуктов питания на основе медико-биологических воззрений : матер. IV Междунар. науч.-техн. конф. Воронеж, 2014. С. 468–471.

Мусина О.Н., Азолкина Л.Н., Кольтюгина О.В. Разработка технологии и рецептуры молочно-растительных продуктов на основе альбумина // Проблемы и перспективы развития агропромышленного производства. Пенза, 2014. С. 159–169.

УДК 663.15

А.П. Рудомётов[1,2], Д.В. Антонец[2], К.В. Старожилова[1], Н.Б. Андреева[1], Д.Н. Щербаков[1,2]

[1]Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

[2]Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово, Россия)

ДИЗАЙН ЭКСПРЕССИОННОЙ КАССЕТЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ХИМОЗИНА ТЕЛЕНКА В КУЛЬТУРЕ *BACILLUS SUBTILIS*

Рекомбинантный химозин в настоящее время широко используется в пищевой промышленности для производства сыров. Сыры, полученные с помощью рекомбинантного химозина, не уступают по качеству традиционным сырам, выработанным с помощью молокосвертывающих ферментов животного происхождения (сычужного фермента). В последние годы в сыродельной промышленности возник дефицит молокосертывающих ферментов животного происхождения, который может быть компенсирован за счет увеличения производства рекомбинантных ферментов. В рамках данной

работы нами была спроектирована генетическая конструкция, кодирующая бычий химозин В, с кодонным составом, оптимизированным для экспрессии в клетках *Bacillus subtilis*.

Ключевые слова: ген бычьего химозина, генетическая конструкция, рекомбинантный химозин.

A.P. Rudometov[1,2], D.V. Antonets[2], K.V. Starozhilova[1], N.B. Andreeva[1], D.N. Shcherbakov[1,2]

[1]Altai State University (Barnaul, Russia)

[2]State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" (Koltsovo, Russia)

DESIGN OF THE EXPRESSING CARTRIDGE FOR THE CALF CHYMOSIN RECEIVING IN THE *BACILLUS SUBTILIS* CULTURE

Recombinant chymosin is widely used in the food industry for production of cheeses currently. The cheeses received by the recombinant chymosin don't concede on quality to the traditional cheeses developed with the help of a milk-clotting enzymes of an animal origin (abomasal enzyme). In recent years in the cheese industry it has been appeared deficiency of the milk-clotting enzymes of an animal origin which can be compensated by increase in production of recombinant enzymes. Within this work we designed the genetic construction that coding bovine chymosin B with the codon structure optimized for an expression in the *Bacillus subtilis* cells.

Key words: gene of bovine chymosin, genetic design, recombinant chymosin.

Первые эксперименты по экспрессии сычужного фермента в прокариотах проводились с бактерией *Escherichia coli*. Фермент синтезировали в форме Met-прохимозина или N-терминально «сшитых» полипептидов под контролем различных промоторов *E. Coli* (lac, trp, tac, λPR, pho A, T7) [Nishimori, 1984, с. 41–49]. При этом исследователи столкнулись с рядом проблем секреции, выделения и очистки фермента. В итоге, чтобы исключить затратные и технологически сложные процедуры выделения и очистки, были разработаны системы, позволяющие высвобождать химозин во внеклеточное пространство [Holland, 1990, с. 132–143]. Одной из перспективных систем экспрессии белков в растворимой форме является *Bacillus subtilis.* Однако данные по использованию этой системы для получения рекомбинантного химозина противоречивы. Таким образом, целью нашей работы являются получение штамма продуцента рекомбинантного химозина на основе *Bacillus subtilis* и оценка его характеристик. Первым этапом этой работы является дизайн экспрессионной кассеты, позволяющей использовать существующие экспрессионные вектора *Bacillus subtilis*.

Для получения искусственного гена была выбрана следующая последовательность бычьего химозина В (*Swiss-Prot ID: P00794*).

За основу был выбран вектор pBE-S (TAKARA BIO INC). Поскольку планируется получать рекомбинантный белок в секретируемой форме, на N-конец целевого белка был добавлен сигнальный пептид белка AprE *B. subtilis*, который должен обеспечить секрецию целевого белка [Tjalsma, 2005, с. 4472–4482].

Выбор сигнального пептида играет важную роль для оптимизации уровня продукции секретируемого рекомбинантного белка, и, учитывая, что для различных целевых белков оптимальный уровень продукции может достигаться с использованием различных сигнальных пептидов, мы планируем использовать в дальнейшей работе систему экспрессии *Bacillus subtilis* Multiplex Secretion Expression System (MoBiTec GmbH), позволяющую выбрать оптимальный из 173 различных сигнальных пептидов. Дополнительным преимуществом этого продукта является то, что с ним поставляется штамм *B. subtilis* RIK1285, дефицитный по секретируемым

нейтральным и щелочным протеазам [Murayama, 2004, с. 414–415], что также способствует более высокому выходу целевых белков.

На рисунке приведена карта разработанных в рамках данной работы кассет, содержащих искусственный ген, кодирующий рекомбинантный химозин B.

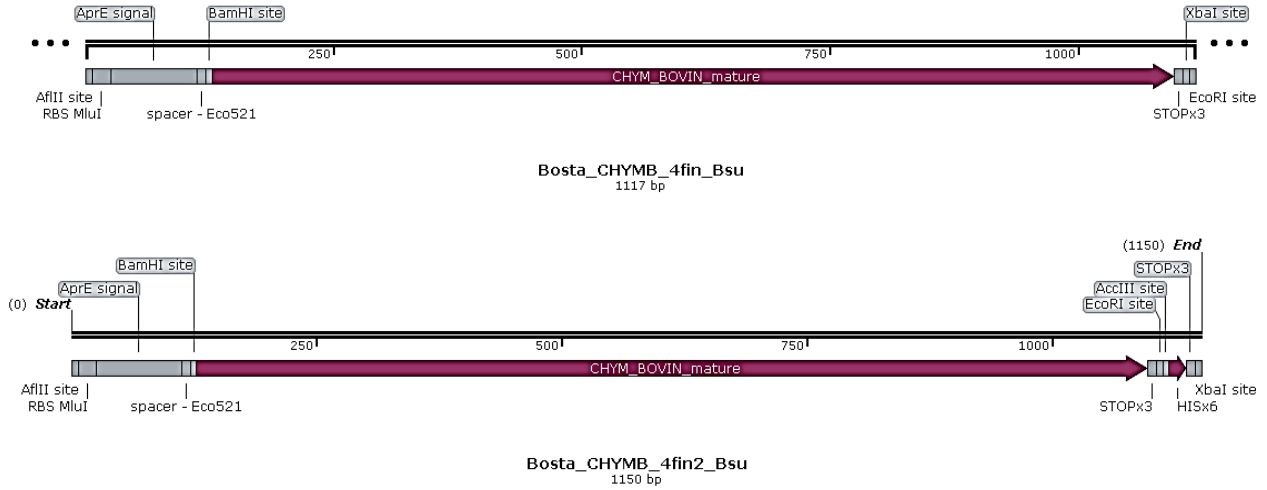


Схема экспрессионной кассеты для получения рекомбинантного химозина теленка в *Bacillus subtilis:*

AprE signal — сигнальный пептид, обеспечивающий выход белка в культуральную среду; RBS — сайт присоединения рибосомы; AflII и XbaI — сайты рестрикции, которые используются для встройки экспрессионной кассеты; His×6 — гистидиновый пептид, позволяющий проводить очистку готового белка при помощи металл-хелатной хромотографии; Start и Stop — начало и конец трансляции; Spacer — нуклеотидная последовательность, разделяющая сигнальный пептид и последовательность химозина

В состав кассеты Bosta_CHYMB_4fin_Bsu был дополнительно введен фрагмент, кодирующий 6 остатков гистидина (Bosta_CHYMB_4fin2_Bsu) для того, чтобы обеспечить возможность очистки целевого рекомбинантного белка с помощью металл-хеллатной хроматографии. С помощью данной кассеты мы можем получить как рекомбинантный химозин с С-концевыми остатками гистидина, так и без них. Для этого в аминокислотной последовательности бычьего химозина последний остаток Ile был заменен на Gly, что позволило ввести в последовательность сайт эндонуклеазы рестрикции MroNI (GCCGGC), совместимый с сайтом эндонуклеазы рестрикции AccIII (TCCGGA). Таким образом, при необходимости мы можем получить секретируемый белок, не содержащий С-концевых остатков гистидина, для этого нужно вырезать фрагмент по AflII/EcoRI (или AccIII, или XbaI). Для того чтобы получить рекомбинантный химозин с С-концевыми гистидинами, фрагмент необходимо разрезать по MroNI (GCCGGC) и AccIII (TCCGGA) и лигировать. При этом вырезаются стоп-кодоны. После лигирования фрагмент вырезается рестриктазами AflII/XbaI и встраивается в плазмиду экспрессии.

Аминокислотная последовательность химозина, закодированная в искусственном гене, встроенном в кассету Bosta_CHYMB_4fin2_Bsu, не содержит замен по сравнению с природной последовательностью бычьего химозина B.

Как отмечено в литературе, при экспрессии гетерологичного белка выход целевого продукта можно существенно увеличить за счет оптимизации кодонов [Gustaffson, 2004, с. 346–353]. Частота использования кодонов у различных орга-

низмов сильно варьирует [Gouy, 1982, с. 7055–7074] и положительно коррелирует с концентрацией соответствующих тРНК в клетках [Ikemura, 1981, с. 389–409]. Использование редких кодонов может не только снижать уровень продукции целевого белка, но и приводить к сдвигу рамки трансляции, ошибкам трансляции и т.п. [Villalobos, 2006]. Но и кодирование аминокислот с помощью наиболее часто используемых в данном организме кодонов (одна а.к.о. — один кодон) обладает существенными недостатками: несбалансированное использование тРНК также может приводить к ошибкам трансляции [Kurland, 1996, 489–493]. Кроме того, при таком подходе трудно избежать наличия повторяющихся участков и сложной вторичной структуры мРНК, что может отрицательно сказываться как на стабильности искусственного гена, так и на эффективности трансляции. Трудно при этом и элиминировать из транслируемой области искусственного гена нежелательные мотивы, такие как, например, последовательность Шайна — Дальгарно (показано, что эта последовательность, расположенная после инициирующего кодона, снижает продукцию белка, сайтов эндонуклеаз рестрикции и т.п.). В рамках данной работы мы провели оптимизацию кодонов в искусственном гене с учетом частоты использования кодонов в *B. subtilis* с помощью программы Gene Designer (DNA2.0, USA) [Villalobos, 2006].

Таким образом, в рамках данной работы нами была спроектирована генетическая конструкция, кодирующая бычий химозин B, с кодонным составом, оптимизированным для экспрессии в клетках Bacillus subtilis.

Библиографический список

Gouy M., Gautier. C., Codon usage in bacteria: correlation with gene expressivity // Nucleic acids research. 1982. №. 22. P. 7055–7074.

Grabbe M.J.C., Fox P.F., McSweeney P.L.H. et al. Cheese Chemistry, Physics and Microbiology, Third edition, Volume I: General Aspects. Rennets: General and Molecular Aspects // Elsevier Academic Press. 2004. P. 19–45.

Gustafsson C., Govindarajan S. et al. Codon bias and heterologous protein expression // Trends in biotechnology. 2004. № 7. P. 346–353.

Holland B., Kenny B., Steipe B. et al. Secretion of heterologous proteins in Escherichia coli // Meth. Enzymol. 1990. №182. P. 132–143.

Ikemura T. Correlation between the abundance of Escherichia coli transfer RNAs and the occurrence of the respective codons in its protein genes: a proposal for a synonymous codon choice that is optimal for the E. coli translational system // Journal of molecular biology. 1981. №3. P. 389–409.

Kurland C., Gallant J. Errors of heterologous protein expression // Current Opinion in Biotechnology. 1996. №5. P. 489–493.

Murayama Y., Nakajima M., Imai K. et al. Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro // Science. 2005. №5720. P. 414–415.

Nishimori K., Shimizu N., Kawaguchi Y. et al. Expression of calf prochymosin cDNA by plasmid vectors using tryptophan operon promoter // Gene. 1984. №29. P. 41–49.

Tjalsma H., Dijl J.M. van Proteomics-based consensus prediction of protein retention in a bacterial membrane // Proteomics. 2005. №17. P. 4472–4482.

Villalobos A., Ness J.E., Gustafsson C. et al. Gene Designer: a synthetic biology tool for constructing artificial DNA segments //BMC bioinformatics. 2006. №1. P. 285.

УДК 581.6:582.47:674.8

А.В. Семенович, С.Р. Лоскутов
Институт леса им. В.Н. Сукачёва СО РАН (Красноярск, Россия)

КОРА ХВОЙНЫХ ПОРОД — ПЕРСПЕКТИВНОЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ СОРБЕНТОВ РАЗЛИЧНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Исследование посвящено применению отходов окорки древесины — коры хвойных в качестве вторичного сырья при изготовлении сорбентов различного назначения. Сорбционная емкость модифицированной коры по отношению к катионам металлов Cu^{2+}, Co^{2+}, Ca^{2+}, Zn^{2+} достигает 21,30 мг/г, красителю метиленовому голубому 42,10 мг/г, нефтепродуктам 8,23 г/г. Модифицированная кора пригодна и для сбора разливов нефтепродуктов с водных поверхностей.

Ключевые слова: утилизация коры, модифицирование, сорбция.

A.V. Semenovich, S.R. Loskutov
V.N. Sukachev Institute of Forest, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Krasnoyarsk, Russia

THE BARK OF CONIFEROUS TREES IS A PROMISING RAW MATERIAL FOR THE MANUFACTURE OF VARIOUS SORBENTS

The application of waste wood — the bark of coniferous as a secondary raw material in the manufacture of sorbents for various purposes was studied. The sorption capacity of modified bark reached 21,30 mg/g for Cu^{2+}, Co^{2+}, Ca^{2+}, Zn^{2+} cations, and 42,10 mg/g for dye methylene blue, and 8,23 g/g for petroleum products. Modified bark can also be used for collection of oil spills from water surfaces.

Key words: utilization of bark, modification, sorption.

Larix sibirica L., Pinus sylvestris L. и *Abies sibirica L.* — древесные породы значимые по объему лесозаготовок и переработки древесины на территории Сибири, что обусловливает образование многотоннажного отхода — коры, вывозимой в отвалы. Перспективное направление утилизации коры — получение сорбентов различного назначения. Использование необработанной коры в качестве сорбента нецелесообразно, так как при ее контакте с водной средой происходит вторичное загрязнение очищаемого стока, вместе с тем, она обладает невысокой способностью поглощать нефтепродукты.

Для получения сорбента со свойствами катионита зарубежными исследователями предложено модифицировать кору химическими реагентами [Palma et al., 2003]. Свойства модифицированной коры зависят от ряда факторов, в том числе от фракционного состава (луб-корка-древесина), особенностей анатомо-морфологического строения и химического состава сырья, которые определяются не только принадлежностью к той или иной породе, но и ботанико-географическими условиями произрастания деревьев. В связи с этим изучение сорбционных свойств модифицированной коры основных лесообразующих пород Сибири является актуальной задачей.

Целью работы являлось получение сорбентов различного назначения путем химической модификации коры хвойных пород, произрастающих на территории Сибири.

В качестве сырья использовали отходы деревообработки лесопромышленного комплекса ОАО «Енисейлес». Кору высушивали, измельчали, выделяли фракцию 0,5–1,0 мм. Модифицирование коры для получения катионита осуществляли по методу фенолформальдегидной конденсации [Семенович и др., 2015], для получения поглотителя НП – по методу гидрофобизации проэкстрагированной коры [Семенович и др., 2008]. Равновесную концентрацию катионов в растворах определяли

с помощью фотометрического метода анализа. Поглотительную способность сорбентов по отношению к НП определяли гравиметрически.

Результаты определения сорбционной емкости сорбентов по отношению к катионам Me^{2+} и МГ в статических условиях опыта представлены в таблице.

Наиболее интенсивно адсорбция катионов происходит в области pH от 6,13 до 10,55. Модифицированная кора пихты извлекает из водных растворов катионы Me^{2+} и МГ в большем количестве, чем кора сосны и лиственницы. Из использованных в работе катионов (Cu^{2+}, Co^{2+}, Ca^{2+}, Zn^{2+}) Zn^{2+} извлекается сорбентами в наибольших количествах, как из индивидуальных водных растворов, так и в присутствии конкурирующих катионов металлов в растворе.

Сорбционная емкость сорбентов, полученных из различного сырья

Сорбент	Сорбционная емкость	Литература
По отношению к катионам Cu^{2+}, мг/г		
Сульфированная древесина ели	6,35	[Лисова, 1983]
Кислотный гидролиз рисовой шелухи	6,13	[Шевелева и др., 2009]
Модифицированная кора *Larix sibirica* L., *Pinus sylvestris* L., *Abies sibirica* L.	1,7–21,30	Данная работа
По отношению к катионам метиленового голубого, мг/г		
Уголь активированный (таблетки)	31	[Шиков и др., 2002]
Модифицированный шрот семян *Pinus sibirica* L.	28	[Шиков и др., 2002]
Термообработанная скорлупа кедровых орехов	20	[Одинцова, 2010]
Модифицированная кора *Larix sibirica* L., *Pinus sylvestris* L., *Abies sibirica* L.	17,72–42,10	Данная работа
По отношению к нефтепродуктам, г/г		
Модифицированная кора *Pinus pinaster*	0,2–2,0	[Haussard et al., 2003]
Модифицированная кора *Pinus resinosa*Ait	0,083	[Kalmykova et al., 2008]
Модифицированная кора *Larix sibirica* L., *Pinus sylvestris* L., *Abies sibirica* L.	1,86–8,23	Данная работа

Изменение параметров модифицирования коры может приводить: к повышению сорбционной емкости сорбентов по отношению к Me^{2+} до 30%, или к снижению сорбционной емкости сорбентов по отношению к Me^{2+} до 38%, к МГ — до 50% [Семенович и др., 2015; Семенович и др., 2004].

Изменение сорбционной емкости сорбентов наблюдалось и при замене катализатора модифицирования коры. При изучении сорбции Me^{2+} из раствора [Семенович и др., 2015] найдено, что сорбционная емкость сорбентов, полученных модифицированием в присутствии 3% HNO_3, может повышаться до 27% и снижаться до 57%, по сравнению с этим показателем для образцов, модифицированных в присутствии 0,2 N H_2SO_4. Изучение сорбции МГ из раствора [Семенович и др., 2004] показало, что при модифицировании коры в течение 2 ч — преимущество по сорбционной емкости имеют сорбенты, изготовленные в присутствии 3% HNO_3; при модифицировании в течение 15 мин — сорбенты, модифицированные в присутствии 0,2 N H_2SO_4.

Анализом опытных изотерм сорбции катионов Cu^{2+} и МГ из водных растворов модифицированной корой с помощью уравнений Ленгмюра, Фрейндлиха, Темкина, Дубинина — Радушкевича установлено, что изотермы сорбции катионов Cu^{2+} из водных растворов сорбентами наилучшим образом описываются уравнением Фрейндлиха, изотермы сорбции катионов МГ — уравнением Темкина. Модели Фрейндлиха и Темкина учитывают неоднородность поверхности сорбента и взаимодействие адсорбированных катионов. Механизм сорбции Cu^{2+} модифицированной корой включает ионный обмен, физическую и химическую адсорбцию, специфическое взаимодействие за счет образования водородных и ионных связей. Межмолекулярное взаимодействие катионов МГ с активными центрами сорбента осуществляется по механизму ионного обмена, физической адсорбции и специфического взаимодействия (ионные связи).

Исследование поглотительной способности сорбентов полученных из коры по отношению к углеводородным маслам и концентрированной эмульсии «м/в» показало следующее. Поглотительная способность необработанной коры по отношению к УМ невысока — до 2,7 г масла/г сорбента. Увеличения этого показателя достигли механической и химической обработкой исходного сырья. Максимальное количество УМ (6,48 г) удерживается 1 г коры фракцией 0,5–1,0 мм. С увеличением размера частиц ПСК уменьшается в среднем в 6 раз. Тип УМ существенно не влияет на ПСК в пределах одной фракции частиц.

Экстракция коры водно-органическими экстрагентами увеличивает ее поглотительную способность по отношению к НП. Максимальное количество УМ с твердой поверхности улавливают поглотители, полученные экстракцией коры сосны 1% водной смесью МЭА (5,32 г/г). Наибольшее количество эмульсии удерживают поглотители, изготовленные из коры лиственницы путем экстракции 2% водной смесью МЭА с последующей гидрофобизацией послеэкстракционного остатка ПМС-100 (8,23 г/г).

Гидрофобизированные послеэкстракционные остатки коры способны полностью поглощать углеводородное масло, разлитое на поверхности воды. Наиболее пригодны для этих целей поглотители, полученные экстракцией коры сосны и лиственницы водно-органическими смесями вода – МЦ и вода – МЦ – ДМФА. Для этих же сорбентов достигалась наибольшая эффективность гидрофобизации. Полученные сорбенты характеризуются малой насыпной плотностью (от 120 до 240 кг/м^3) и невысокой степенью набухания в воде (от 1,05 до 1,80%).

Из приведенных результатов (см. табл.) следует, что переработка коры хвойных пород Сибири с целью получения сорбентов различного назначения целесообразна. Данный способ утилизации коры хвойных пород до некоторой степени снимет и остроту проблемы загрязнения окружающей среды.

Список сокращений

Me^{2+} — катионы металлов; МГ — метиленовый голубой; НП — нефтепродукты; УМ — углеводородные масла; ПСК — поглотительная способность коры; МЭА – моноэтаноламин; МЦ – метилцеллюлоза; ДМФА – диметилформамид; ПМС-100 — полиметилсилоксановая жидкость.

Библиографический список

Лисова В.С. Сульфирование древесины пиридинсульфотриоксидом в органической среде // Химия древесины. 1983. №6. С. 87–89.

Одинцова М.В. Физико-химические характеристики бифункционального сорбента из скорлупы кедровых орехов : автореф. дис. … канд. хим. наук. Омск, 2010. 18 с.

Семенович А.В., Лоскутов С.Р. Адсорбция катионных красителей модифицированной корой хвойных древесных пород // Химия растительного сырья. 2004. №3. С. 121–125.

Семенович А.В., Лоскутов С.Р. Закономерности сорбции катионов металлов модифицированной корой хвойных древесных пород Сибири // Вестник КрасГАУ. 2015. №1. С. 197–202.

Семенович А.В., Лоскутов С.Р., Пермякова Г.В. Сбор проливов нефтепродуктов модифицированной корой хвойных пород // Химия растительного сырья. 2008. №2. С. 113–117.

Шевелева И.В., Холомейдик А.Н., Войт А.В., Земнухова Л.А. Сорбенты на основе рисовой шелухи для удаления ионов Fe(III), Cu(II), Cd(II), Pb(II) из растворов // Химия растительного сырья. 2009. №4. С. 171–176.

Шиков А.Н., Косман В.М., Пожарицкая О.Н. Сорбционные свойства шрота семян *Pinus sibirica* DU TOUR // Растительные ресурсы. 2002. Т. 38 (3). С. 106–111.

Haussard M., Gaballah I., Kanari N., Ph. de Donato, Barrés O., Villieras F. Separation of hydrocarbons and lipid from water using treated bark // Water Research. 2003. №2, V. 37. P. 362–374.

Kalmykova Y., Steenari A.-M., Song B.-M. Alternative materials for adsorption of heavy metals and petroleum hydrocarbons from contaminated leachates // Environmental Technology. 2008. №1, V. 29. P. 111–122.

Palma G., Freer J., Baeza J. Removal of metal ions by modified *Pinus radiata* bark and tannins from water solution // Water Research. 2003. №20, V. 37. P. 4974–4980.

УДК 579.66

Е.А. Скиба, Ю.С. Богомолова

Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

БИОСИНТЕЗ КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ НА ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЕ ИЗ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

Получена биомасса кормовых дрожжей на двух видах послеспиртовой барды: из плодовых оболочек овса и из мискантуса. Использованы штаммы дрожжей Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (Москва): *Pichia stipitis* Y-3263, *Pachysolen tannophilus* Y-1532, *Debariomyces castellii* Y-968. Приведены основные показатели биосинтеза кормовых дрожжей, проанализирована эффективность синтеза биомассы и утилизации редуцирующих веществ, в том числе пентоз, в зависимости от сырьевого источника и штамма продуцента.

Ключевые слова: плодовые оболочки овса, мискантус, барда, культивирование, кормовые дрожжи, штамм.

E.A. Skiba, Yu.S. Bogomolova

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

BIOSYNTHESIS OF FODDER YEASTS ON DISTILLERY DREG FROM LIGNOCELLULOSIC RAW MATERIALS

Fodder yeast biomasses were produced on two types of distillery dreg originating from oat hulls and *Miscanthus* ethanol production. The following yeast strains of the Russian National Collection of Industrial Microorganisms, Moscow, were used: *Pichia stipitis* Y-3263, *Pachysolen tannophilus* Y-1532, and *Debariomyces castellii* Y-968. The main characteristics of the fodder yeasts synthesis are given; efficiencies of the biomass synthesis and utilization of reducing sugars, including pentoses, were analyzed as a function of the raw material source and producer strain.

Key words: oat hulls, *Miscanthus*, distillery dreg, cultivation, fodder yeast, strain.

В ИПХЭТ СО РАН разработана технология получения биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья: отходов зернопереработки — плодовых оболочек овса и энергетического растения мискантус. Основным отходом в производстве спирта микробиологическим путем является барда. Поскольку для синтеза этанола использованы сахаромицеты, то несброженными остаются пентозы, которые в зависимости от вида сырья, способа химической предобработки, технологической схемы производства биоэтанола могут оставаться в барде в значительных количествах. Поэтому представляется целесообразным на послеспиртовой барде проводить биосинтез кормового белка, используя штаммы дрожжей, способные к утилизации пентоз.

Целью данной работы являлось осуществление биосинтеза кормовых дрожжей на двух видах питательных сред: мискантусной послеспиртовой барде и послеспиртовой барде из плодовых оболочек овса. Использованы нативные среды, питательные соли и витамины не вносились. Применялись три продуцента Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (Москва): *Pichia stipitis* Y-3263, *Pachysolen tannophilus* Y-1532, *Debariomyces castellii* Y-968.

Послеспиртовая барда фильтровалась и подвергалась стерилизации при 0,5 атм. в течение 30 мин. После проверки стерильности в барду вносился инокулят в количестве 10%. Температура культивирования 30 °С, продолжительность — 4 суток, аэрация осуществлялась путем перемешивания при 180 об./мин.

Концентрация сахаров в пересчете на глюкозу определялась спектрофотометрически с помощью реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (спектрофотометр «UNICO» UV-2804, США). Активная кислотность измерялась потенциометрически. Общую численность дрожжей определялась методом прямого подсчета с использованием камеры Горяева.

Основные показатели биосинтеза кормовых дрожжей на двух видах послеспиртовой барды из целлюлозосодержащего сырья приведены в таблице.

Основные показатели биосинтеза кормовых дрожжей на послеспиртовых бардах из целлюлозосодержащего сырья

Продуцент	Барда из плодовых оболочек овса			Барда из мискантуса		
	P.s.	*P.t.*	*D.c.*	*P.s.*	*P.t.*	*D.c.*
Общее количество дрожжей, *N*, млн КОЕ/мл	365	804	340	0	445	38
Средний размер клеток, $d * l$, мкм^2	5,9 * 6,1	3,1 * 3,3	5 * 5,2		1,8*2,0	1,2*1,4
Биомасса клеток, $N * d * l$, млн КОЕ * мкм^2/мл	13136	8225	8840	0	1602	64
Начальная концентрация РВ, г/л	19,2	19,2	19,2	3,1	3,1	3,1
Конечная концентрация РВ, г/л	1,8	9,9	3,9	2,1	0,7	0,9
Эффективность конверсии РВ, %	90,6	48,4	79,7	32,3	77,4	71,0
Начальная концентрация пентоз, г/л	11,3	11,3	11,3	0,6	0,6	0,6
Конечная концентрация пентоз, г/л	6,4	9,8	6,6	0,1	0,2	0,2
Эффективность конверсии пентоз, %	43,4	13,3	41,6	83,3	61,7	61,7

Примечание: P.s. — Pichia stipitis Y-3263; P.t. — Pachysolen tannophilus Y-1532; D.c. — Debariomyces castellii Y-968; d — диаметр клеток, мкм; *l* — длина клеток, мкм.

Общее количество дрожжей зависит и от источника сырья и от продуцента. Мискантусная послеспиртовая барда является биологически недоброкачественной, для всех использованных штаммов общая численность снижается: для дебариомицетов в 10 раз, для пахизоленов — в 2 раза, для пихий смена среды оказалась критической, штамм не способен размножаться на мискантусной среде. Это подтверждает нашу версию о наличии в мискантусе веществ, ингибирующих рост микроорганизмов. Так, выход биоэтанола ниже на мискантусных субстратах, чем на субстратах, полученных из плодовых оболочек овса [Сакович, 2012, с. 173–176]. В то же время мискантусные среды более устойчивы к посторонней микрофлоре, явления контаминации при биосинтезе этанола наблюдались редко. Нами зафиксированы случаи поражения плесневыми грибами целлюлозосодержащих субстратов, полученных путем азотнокислой варки из плодовых оболочек овса (при влажности субстрата 70–75% и хранении при температуре выше 30 °С в течение 20–30 суток), в то время как мискантусные субстраты, полученные и хранящиеся в аналогичных условиях, были поражены только очагово, в местах контакта субстрата с воздухом. Биомасса мискантуса устойчива в хранении, даже при хранении в открытых условиях, при высокой атмосферной влажности, она не поражается грибами. Какие именно вещества мискантуса оказывают бактерицидное действие, установить сложно, однако можно констатировать, что эти вещества сохраняются в барде после многоступенчатых химических, энзимных и микробиологических превращений. Предположительно их можно отнести к веществам остаточного лигнина.

По общей численности дрожжей пахизолены показывают самые высокие показатели на обоих видах сред, однако этот род дрожжей характеризуется очень мелкими размерами клеток, поэтому для оценки прироста биомассы был также учтен средний размер клеток, представляющий собой произведение диаметра клеток на их длину. Наибольший прирост биомассы на барде из плодовых оболочек овса наблюдается для пихий; пахизолены и дебариомицеты на 37–33% менее продуктивны по приросту биомассы.

Эффективность конверсии РВ рассчитана как отношение утилизированных РВ к общему содержанию РВ, выраженное в процентах. Аналогичным образом рассчитана эффективность конверсии пентоз. На барде из плодовых оболочек овса наибольшая эффективность конверсии РВ и пентоз наблюдаются для пихий, самые низкие эффективности наблюдаются для пахизоленов. Это связано с особенностями метаболизма пахизоленов, штамм Y-1532 не только в данном случае, в аэробных условиях при получении биомассы демонстрирует низкую скорость конверсии РВ, но и при получении с его помощью биоэтанола в анаэробных условиях, также потребляет субстрат в 2 раза медленнее, чем сахаромицеты [Байбакова, 2014, с. 949–953].

Однако пахизолены способны жить в бедных средах. Мискантусная барда характеризуется крайне низкой концентрацией питательных — 3,1 г/л, при этом 0,6 г/л составляли пентозы. Клетки пахизоленов стали более мелкими, чем при выращивании данного продуцента, однако эффективность конверсии РВ увеличилась с 48,4 до 77,4%. Это можно объяснить субстратным ингибированием метаболизма пахизоленов уже при концентрации субстрата 20 г/л [Байбакова, 2014, с. 949–953].

По результатам работы можно рекомендовать в качестве питательной среды для биосинтеза кормовых дрожжей использовать послеспиртовую барду из плодовых оболочек овса, а в качестве продуцента *Pichia stipitis* ВКПМ Y-3263.

Библиографический список

Байбакова О.В. Сбраживание ферментативного гидролизата целлюлозы мискантуса с помощью *Pachysolen tannophilus* Y-1532 и *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 // Фундаментальные исследования. 2014. №9 (ч. 5). С. 949–953.

Сакович Г.В., Будаева В.В., Скиба Е.А., Макарова Е.И., Павлов И.Н., Кортусов А.Н., Золотухин В.Н. Опыт масштабирования ферментативного гидролиза технических целлюлоз мискантуса и плодовых оболочек овса // Ползуновский вестник. 2012. №4. С. 173–176.

УДК 577.15:661.722.2

Е.А. Скиба, В.В. Будаева, О.В. Байбакова, Е.И. Макарова,
И.Н. Павлов, В.Н. Золотухин, Ю.А. Крюков
Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

ПОЛУЧЕНИЕ БИОЭТАНОЛА ИЗ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА НА ОПЫТНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ ИПХЭТ СО РАН

Технология биоэтанола апробирована на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН, использовано стандартное емкостное оборудование. Масштабирован по объему полный цикл получения биоэтанола от сырья до готового продукта. Биоэтанол синтезирован из плодовых оболочек овса с выходом 12,4 дал/т.

Ключевые слова: плодовые оболочки овса, ферментативный гидролиз, спиртовое брожение, биоэтанол, масштабирование.

E.A. Skiba, V.V. Budaeva, O.V. Baibakova, E.I. Makarova,
I.N. Pavlov, V.N. Zolotukhin, Yu.A. Kryukov
Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

BIOETHANOL PRODUCTION FROM OAT HULLS AT IPCET SB RAS PILOT FACILITY

The bioethanol technology has been proven at the IPCET SB RAS pilot facility using standard capacitive equipment. The total cycle ofbioethanol production, from the feedstock to the final product, has been scaled up by volume. Bioethanol was synthesized from oat hulls in a yield of 12,4 dal per ton.

Key words: oat hulls, enzymatic hydrolysis, yeast fermentation, bioethanol, scaling-up.

В ИПХЭТ СО РАН разработана технология получения биоэтанола из плодовых оболочек овса (ПОО), включающая полный цикл: сырье → предварительная химическая обработка → субстрат → ферментативный гидролиз → спиртовое брожение → выделение биоэтанола из бражки→ концентрирование биоэтанола. Технология отработана в лабораторных условиях, найдены оптимальные режимы на каждой технологические стадии [Скиба, 2013, с. 202–205]. В данную работу включены результаты масштабирования полного цикла на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН. Использовано стандартное емкостное оборудование.

Предварительная химическая обработка заключалась в обработке ПОО разбавленным раствором гидроксида натрия при температуре 90–92 °С в одну стадию согласно нормативно-технической документации (НТД) ТП 10018691.01101.00072 «Технологическая пропись получения технической целлюлозы из плодовых оболочек овса комбинированным способом».

Биоконверсия полученного субстрата в биоэтанол осуществлялась согласно ТП 10018691.01101.00071 «Технологическая пропись получения биоэтанола из мискантуса и плодовых оболочек овса». Ферментативный гидролиз проводился в водной среде в емкостном оборудовании объемом 63 л, при этом уровень активной кислотности поддерживался вручную в диапазоне 4,7–5,1 путем добавления растворов

ортофосфорной кислоты и аммиака. Концентрация субстрата — 60 г/л в пересчете на абсолютно сухое вещество. Промышленно доступные ферментные препараты «Брюзайм BGX» и «Целлолюкс-А» были внесены в избытке. Температура ферментативного гидролиза составила 46,5–47 °С, продолжительность — 32 ч, после этого среду охлаждали до 28 °С, вносили засевные дрожжи и в течение последующих 45 ч проводили спиртовое брожение, совмещенное с ферментативным гидролизом, активная кислотность поддерживалась вручную на уровне 4,7–5,1.

Сбраживание осуществляли с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (Москва). Дрожжи для сбраживания подготовлены следующим образом: чистая культура была пересеяна на среду неохмеленного солодового сусла в количестве 5% к объему среды, культивирование проводилось одни сутки при температуре 28 °С; затем эти дрожжи в количестве 5% были перенесены на среду, состоящую из ферментативного гидролизата и неохмеленного солодового сусла в соотношении 2 : 1, культивирование проводилось одни сутки при температуре 28 °С. Полученные дрожжи в дозировке 12% внесены как инокулят в ферментативный гидролизат, полученный на опытном производстве, общее количество клеток составило 93 млн КОЕ/мл.

Концентрацию сахаров в пересчете на глюкозу определяли спектрофотометрически. Выход редуцирующих веществ (РВ) рассчитан как отношение массы РВ к массе субстрата. Крепость бражек (объемная доля спирта) определялась ареометром для спирта в дистилляте, полученном после предварительной перегонки спирта из бражки, в соответствии с ГОСТ Р 51135-2003.

Физико-химические показатели сырья и субстрата представлены в таблице.

Физико-химические показатели сырья и субстрата

Характеристики субстрата	М.д., % в пересчете на а.с.с.	
	ПОО	субстрат
Целлюлоза по Кюршнеру	37,1	87,5
Зола	4,3	2,3
Пентозаны	34,8	6,2
Лигнин	16,5	4,0

Химическая предобработка гидроксидом натрия в одну стадию позволяет в 4 раза снизить содержание лигнина, в 2 раза — зольность, в 5 раз — содержание пентозанов. На рисунке 1 представлена зависимость концентрации редуцирующих веществ от продолжительности процессов ферментативного гидролиза и спиртового брожения. Первые 32 ч происходил ферментативный гидролиз, далее — ферментативный гидролиз, совмещенный со спиртовым брожением.

Субстрат характеризуется высокой реакционной способностью к ферментативному гидролизу: накопление РВ происходит экспоненциально, уже через 20 ч накапливается максимальная концентрация РВ — 36,3 г/л, т.е. выход РВ составил 54,4%. После внесения дрожжей в течение 4 ч концентрация РВ не изменялась, а затем наблюдалось ее интенсивное снижение. Активная кислотность в процессах ферментативного гидролиза и спиртового брожения поддерживалась на уровне 4,7–5,1, что необходимо для стабилизации работы целлюлазного ферментного комплекса и ферментов зимазного комплекса дрожжей. Проблемой явилось снижение активной кислотности (что обусловлено химизмом гидролиза, а также потреблением азотистых и фосфористых веществ при спиртовом брожении) и необходимость регулирования уровня pH вручную.

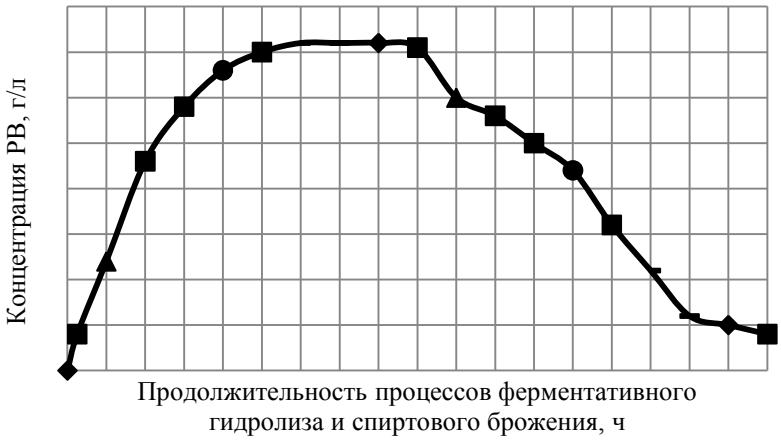


Рис. 1. Зависимость концентрации редуцирующих веществ от продолжительности процессов ферментативного гидролиза и спиртового брожения

На рисунке 2 показана динамика накопления биоэтанола в процессе спиртового брожения. Для удобства восприятия на абсциссе указано время в часах от начала процесса ферментативного гидролиза. Синтез биоэтанола сопряжен с потреблением субстрата, так как биоэтанол относится к первичным метаболитам.

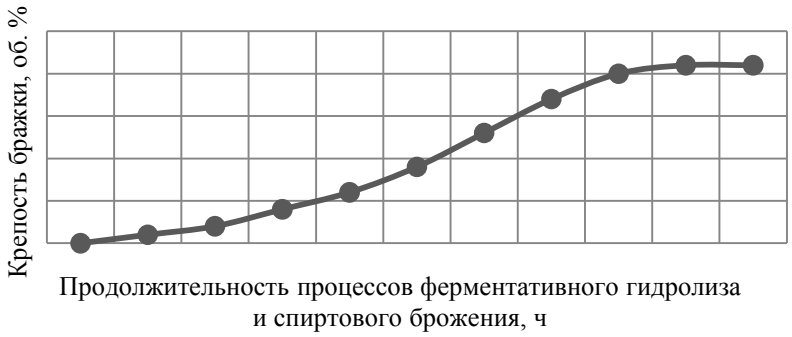


Рис. 2. Динамика накопления биоэтанола в процессе спиртового брожения

При концентрации РВ 36,3 г/л согласно стехиометрическому уравнению брожения может быть получен биоэтанол с крепостью 2,35 об.%. С учетом потерь при перегонке на опытном производстве выход этанола от РВ составил 89,4%. При расчете на сырье выход биоэтанола составил 12,4 дал/т ПОО, что меньше, чем выход биоэтанола из древесины, полученного путем химического гидролиза (17–18 дал/т) [Гельфанд, 2005], но значительно больше, чем выход биоэтанола из ПОО, также полученного путем химического гидролиза (5,7 дал/т) [Luciana Cristina Silveira Chaud, 2012, p. 771–777].

Библиографический список

Гельфанд Е.Д. Основы технологии биоэтанола : учебное пособие. Архангельск, 2005. 54 с.

Скиба Е.А., Будаева В.В., Макарова Е.И., Павлов И.Н., Золотухин В.Н., Сакович Г.В. Биоэтанол из целлюлозы плодовых оболочек овса // Вестник Казан. технол. ун-та. 2013. Т. 16, №22. С. 202–205.

Luciana Cristina Silveira Chaud, Débora Danielle Virgínio da Silva, Rafael Taino de Mattos and Maria das Graças de Almeida Felipe. Evaluation of Oat Hull Hemicellulosic Hydrolysate Fermentability Employing Pichia stipites // Brazilian archives of biology and technology. 2012. V. 55, N. 5. P. 771–777.

УДК 637.1

Д.А. Усатюк, И.М. Мироненко

Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия (Барнаул, Россия)

ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ МОЛОЧНОГО ЖИРА В СОВРЕМЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ ПЕРЕРАБОТКИ МОЛОКА

Рассмотрены вопросы взаимосвязи структуры и свойств молочного жира с его пищевой ценностью. Приведено описание методики термического анализа жирных молочных продуктов, направленной на выявление критических температурных точек чистого молочного жира и продуктов на его основе.

Ключевые слова: молочный жир, пищевая ценность, ацилглицерины, жирные кислоты, транс-изомерия, термический анализ.

D.A. Usatyuk, I.M. Mironenko

Siberian Research Institute of Cheesemaking (Barnaul, Russia)

NUTRITION VALUE OF MILKFAT IN MODERN TECHNOLOGIES FOR MILK PROCESSING

The article discusses the relationship of structure and properties of milk fat to its nutritional value. The description of the method of thermal analysis of fatty dairy products, aimed at identifying the critical temperature points of pure milk fat and products based on it.

Key words: milk fat, nutritional value, acyl glycerol, fatty acids, trans isomers, thermal analysis.

Молочный жир считается важнейшей составной частью молока. Причиной этого является его высокая пищевая ценность, приятный вкус и положительное влияние на консистенцию и текстуру жиросодержащих молочных продуктов.

Главная и основная функция молочного жира в организме человека — это энергетическая функция. Он является носителем и поставщиком большого числа различных жирных кислот, используемых в организме человека для синтеза незаменимых аминокислот и других органических веществ. Этим молочный жир и отличается от других пищевых жиров. Питательная ценность молочного жира обусловлена также содержанием витаминов и жирорастворимых веществ (лецитин, холестерин). Молочный жир рассматривается как реальный источник поставки витамина А в организм человека [Вышемирский, 2004, с. 32]. Природа молочного жира обусловила молочным продуктам низкую температуру плавления, что способствует переходу молочного жира в пищеварительном тракте в наиболее удобное для усвоения жидкое состояние. Это необходимо, так как перед всасыванием в кишечник жир эмульгируется и обрабатывается желчью. Данное свойство молочного жира является главным его преимуществом перед грубыми животными и растительными жирами [Вышемирский, 2004, с. 34].

Холестерин выполняет в организме человека ряд жизненно важных функций: обезвреживает ядовитые вещества крови — сапонины, которые способствуют растворению красных кровяных телец; является исходным компонентом при образовании желчных кислот; участвует в образовании надпочечных гормонов; может действовать как антитоксин. Поступающий вместе с пищей холестерин расходуется в зависимости от потребности организма. Директор ВНИМИ академик В.Д. Харитонов считает, что «рекламные заявления о вреде холестерина в сливочном масле конъюнктурны. Холестерин содержится в любом продукте из животного сырья. Поэтому все разборки с холестерином в сливочном масле не более чем лукавство».

Только в том случае, если обмен веществ в клетках нарушается из-за неправильного питания в течение ряда лет, холестерин может стать причиной развития атеросклероза [Вышемирский, 2010, с. 16–17].

Холестериновый обмен в организме человека регулируется наличием лецитина, которого в молоке и сливках несколько меньше, чем холестерина. В крови человека соотношение между холестерином и фосфолипидами, в том числе лецитином, составляет 1 : 1. При производстве сливочного масла методом сбивания сливок значительная часть лецитина переходит в пахту, что нарушает биологическое равновесие холестерин – лецитин. При выработке сливочного масла методом преобразования высокожирных сливок лецитин в значительной степени сохраняется в масле, что улучшает его биологическую ценность [Вышемирский, 2004, с. 34].

Как соотносится пищевая ценность молочного жира с его структурой и свойствами? Какие изменения происходят с компонентами молочного жира в технологиях переработки молока?

Молочный жир как вещество биологического происхождения представляет собой сложную смесь нескольких видов веществ, относящихся к липидам. Молочный жир состоит из нескольких групп липидов. Различают следующие группы [Тёпел, 2012, с. 164]:

- нейтральный жир, или простые липиды (ацилглицерины — моно-, ди- и триацилглицерины);
- жироподобные вещества, или сложные липиды (фосфолипиды, гликолипиды и воски);
- изопреноидные липиды (стероиды, стероидные гормоны и каротиноиды);
- вещества, сопутствующие жиру (жирорастворимые витамины A, D, E и K, свободные жирные кислоты, липопротеины, высшие жирные спирты и жирорастворимые ароматические вещества).

Основной составной частью нейтрального молочного жира являются монокарбоновые кислоты, называемые также жирными кислотами (ЖК). По данным различных авторов обнаружено от 140 до 169 ЖК различного строения с длиной цепи от C_2 до C_{28}. Содержание их в молочном жире составляет 85%. Таким образом, структура и свойства молочного жира существенно зависят от характеристик именно жирнокислотного состава.

Жирные кислоты различают по длине цепи: низко-, средне- и высокомолекулярные. Свободные низкомолекулярные насыщенные ЖК (от C_4 до C_{10}) оказывают наиболее значительное влияние на вкус и запах продуктов, снижая их органолептические характеристики.

Жирные кислоты различают также по степени насыщенности, выделяя насыщенные и ненасыщенные ЖК. В молекулах ненасыщенных жирных кислот имеются двойные связи между атомами углерода в углеродной цепи, что обусловливает их высокую реакционную способность и, соответственно, именно они претерпевают наиболее значительные изменения в технологиях переработки молока.

Ненасыщенные жирные кислоты имеют большое количество изомерных форм, способны к реакциям присоединения галогенов и легко окисляются кислородом воздуха с образованием низкомолекулярных продуктов распада.

Ненасыщенные ЖК проявляют как изомерию положения, так и стереоизомерию, которую обозначают как цис-транс-изомерию. Изомерные соединения имеют одинаковый состав, но отличаются друг от друга структурой и, следовательно, физическими и химическими свойствами. В цис-конфигурациях атомы водорода у двух углеродных атомов, образующих двойную связь, находятся на одной стороне молекулы, а в транс-конфигурации — на противоположных сторонах.

Транс-изомеры в природе встречаются редко. Транс-изомеры жирных кислот (ТИЖК) можно назвать творением современности. Например, в молоке и жире жвачных животных максимальное количество ТИЖК составляет около 5%. Примерно такое же количество ТИЖК зафиксировано в прогорклом сливочном масле.

Транс-изомеры ЖК образуются при гидрогенизации растительных масел. Гидрогенизация (гидрирование) — процесс насыщения цепочек молекул атомами водорода. При гидрогенизации происходит ломка и перекручивание молекул ЖК, в результате чего создаются молекулы-уроды — трансизомеры ЖК (трансжиры). При комнатной температуре транс-изомеры ЖК твердые [Зайцева, 2012, с. 34–36].

Избыточное количество транс-изомеров ненасыщенных жирных кислот приводит к различным заболеваниям: сахарному диабету, атеросклерозу, стенокардии, аритмии, сердечной недостаточности и т.д. Возникновение перечисленных заболеваний можно объяснить следующим образом. Организм человека просто не знает, как усваивать гидрогенизированные жиры, а после этого освобождать от них организм. Именно поэтому появляется тяжесть в желудке и странная вялость после обильной трансжирной пищи (кетчуп, майонез, маргарин). Сейчас ученые в полной мере осознали значение постоянного присутствия чужеродных веществ в пище. Чужеродное соединение (ксенобиотик) — это вещество, которое данный организм не может использовать ни для производства энергии, ни для построения каких-либо своих частей. К сожалению, в настоящее время при производстве молочных продуктов молочный жир иногда заменяют смесями растительных жиров, включающих гидрогенизированные компоненты.

Но, к счастью, уже существует технология энзимной переэтерификации [Современные инновационные продукты…, 2015, с. 46]. На сегодняшний день это одна из самых передовых технологий модификации растительных масел. По этой технологии содержание транс-изомеров ЖК должно составлять не более 1,0%. Известно, что с 2018 г. количество транс-изомеров не должно будет превышать 2% от содержания жира в продукте в соответствии с техническим регламентом на масложировую продукцию (ТР ТС 024/2011).

Не подлежит сомнению тот факт, что усвояемость и пищевая ценность молочного жира в продуктах переработки молока тесно связаны с технологическими параметрами их выработки.

Так как нейтральный жир представляет собой сложную смесь, то такие физические характеристики, как температура плавления, температура кипения и плотность, не имеют четко выраженных значений, они изменяются в определенном диапазоне. Так, например, температуры плавления триацилглицеринов расположены в интервале от -40 до +72 °С. Но за счет того, что закристаллизовавшийся жир растворяется в жидкой части, процессы плавления и растворения протекают одновременно. Поэтому молочный жир при температуре тела 37 °С полностью находится в жидком состоянии.

Поскольку температуры хранения молочных продуктов составляют (4 ± 2) °С, то плавление молочного жира является суперраспространенным и то же время сложным процессом. К показателям, характеризующим процесс плавления молочного жира, относят: температуру полного растворения (34,5–37 °С), температуру истечения и температуру каплепадения.

А что происходит с молочным жиром при температурах гораздо выше 37 °С, или при его плавлении начиная с минусовых температур?

В Сибирском НИИ сыроделия разработан специальный прибор «Термоскан-2», позволяющий выявлять критические температурные точки при нагреве и охлаждении высокожирных молочных продуктов в диапазоне температур от -16 до 100 °С.

В настоящее время отрабатываются элементы методики термического анализа для фиксации термических эффектов, происходящих при охлаждении и нагреве исследуемых образцов молочного жира и продуктов на его основе.

На рисунке в качестве примера приведен график зависимости термических эффектов от температуры, регистрируемых в процессе нагрева чистого молочного жира.

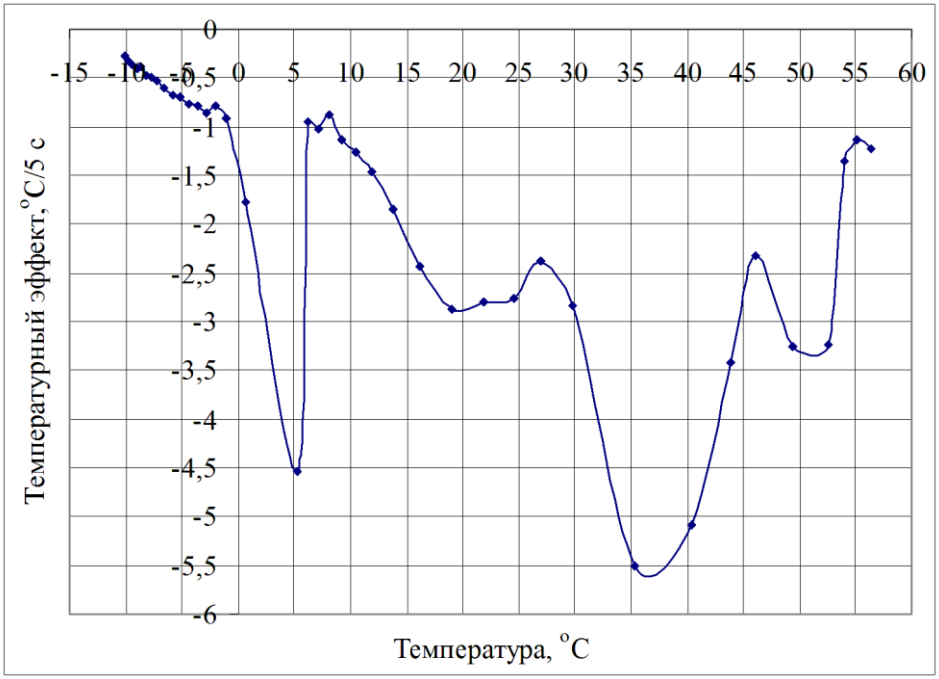


График зависимости температурного эффекта от температуры при нагреве чистого молочного жира

Из графика следует, что термические эффекты ярко проявляются при следующих температурах. Точки минимума: 5,21 °С, 19,04 °С, 35,31 °С и 52,62 °С; точки максимума: 8,06 °С, 26,97 °С, 46,14 °С и 55,11 °С. Каждый пик характеризует определенную зону превращений молочного жира. Точки минимума характеризуют пик (середину) процесса плавления определенной зоны, что свидетельствует о проявлении экзотермического эффекта, идущего с разрушением связей. Точки максимума выявляют зоны протекания эндотермических процессов. Вероятно, именно в этих точках происходит построение определенных связей, идущее с поглощением тепла. Таким образом, регистрируя температурные эффекты в различных жиросодержащих молочных продуктах, можно корректировать ход технологических процессов. Методику термического анализа также можно применять при анализе жиросодержащих молочных продуктов на наличие растительных жиров. Ведь известно, что одна из зон плавления молочного жира начинается с 27 °С, а у большинства заменителей молочного жира эта зона плавления начинается с 30 °С.

Библиографический список

Вышемирский Ф.А. Масло из коровьего молока и комбинированное. СПб., 2004. 720 с.

Вышемирский Ф.А. Производство масла из коровьего молока в России. СПб., 2010. 288 с.

Зайцева Л.В. Транс-изомеры — чума XXI века // Сыроделие и маслоделие. 2012. №2. С. 34–36.

Современные инновационные продукты для молочной и масложировой отрасли // Сыроделие и маслоделие. 2015. №3. С. 46.

Тёпел А. Химия и физика молока. СПб., 2012. 832 с.

УДК 637.1

И.А. Функ, А.Н. Иркитова
Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОБИОТИЧЕСКОГО КИСЛОМОЛОЧНОГО НАПИТКА

В настоящее время все большее число потребителей рассматривают употребление обогащенных полезной микрофлорой продуктов в качестве долгосрочных вложений в собственное здоровье. Поэтому пробиотические кисломолочные продукты, в том числе напитки, набирают все большую популярность.

***Ключевые слова**:* пробиотики, кисломолочный продукт, Bifidobacterium longum, Lactobacillus plantarum.

I.A. Funk, A.N. Irkitova
Altai State University (Barnaul, Russia)

ELABORATION BIOTECHNOLOGY OF PROBIOTIC FERMENTED DRINKS

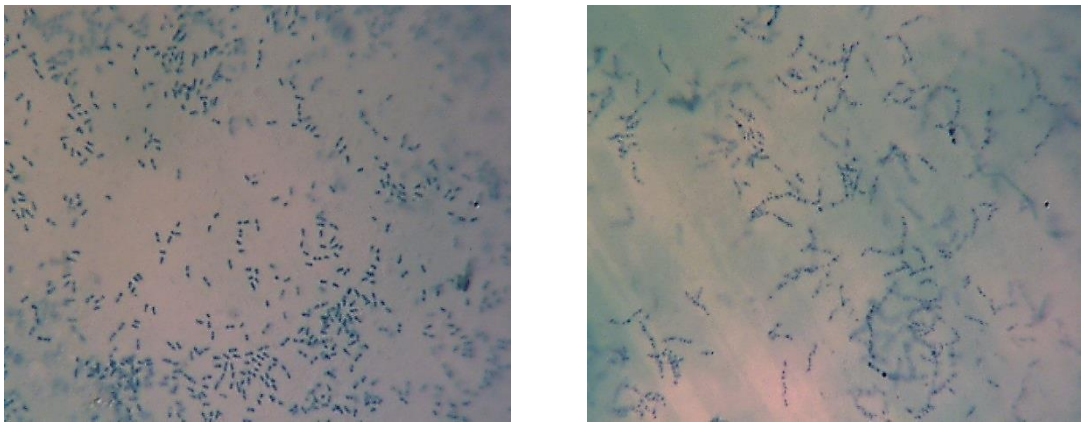
Nowadays, more and more number of consumers prefer to use products which contain a lots of useful microflora as long-term investments in their own health. That's why, probiotic dairy products, including beverages, become popular.

Key words: probiotic, fermented milk drink, Bifidobacterium longum, Lactobacillus plantarum.

Главная функция пробиотиков — профилактика развития кишечного дизбактериоза в результате антибиотикотерапии, хирургических вмешательств, острых и хронических заболеваний кишечника, стресса и других причин. Их рекомендуют также применять в качестве одного из эффективных средств в комплексной терапии уже развившегося дисбактериоза [Артюхова и др., 2014, с. 20; Сергеева и др., 2009, с. 20].

В Сибирском институте сыроделия (СибНИИС) разработан оригинальный кисломолочный пробиотический напиток, получивший название «Плабифин» (ТУ 9222-073-00419710-14).

Материалы и методы. Напиток представляет собой нормализованное по массовой доле жира стерилизованное или пастеризованное молоко, сквашенное совместным действием заквасок из двух групп полезных микроорганизмов: *Lactobacillus plantarum* (рис., *а*) и *Bifidobacterium longum* (рис., *б*). При разработке технологии использовали штаммы микроорганизмов из коллекции лаборатории микробиологии СибНИИС.



а) б)

Микроскопический препарат (увел. 10 х 100):
а) *Lactobacillus plantarum* б) *Bifidobacterium longum*

Результаты исследований и обсуждение. В ходе работы было проведено четыре эксперимента, где в качестве материнской закваски для *B. longum* использовали питательную среду ГМС Б, а для *L. plantarum* — питательную среду ЗЛА. В качестве производственной закваски использовали обезжиренное стерилизованное коровье молоко. Напиток готовили на цельном и обезжиренном стерильном молоке. Технологические показатели данных образцов напитка представлены в таблице 1.

Таблица 1

Технологические показатели пробиотического напитка

Показатели	pH	M_{pH}	S_{pH}	°T	$M_{°T}$	$S_{°T}$
ОМ	4,19 4,27 4,77 4,58	4,45	± 0,45	96 106 72 90	91	± 22,71
ЦМ	4,12 4,16 4,69 4,56	4,38	± 0,45	106 98 72 76	88	± 26,4
ОП	5,37 5,22 5,27 5,24	5,27	± 0,13	40 54 50 52	49	± 9,9
ЦП	5,13 5,03 5,18 5,15	5,12	± 0,09	44 54 50 52	50	± 6,87

Примечание: ОМ — напиток на обезжиренном молоке на основе материнской закваски; ЦМ — напиток на цельном молоке на основе материнской закваски; ОП — напиток на обезжиренном молоке на основе производственной закваски; ЦП — напиток на цельном молоке на основе производственной закваски.

В результате проведенных экспериментов выявлено, что напиток, приготовленный на производственной закваске, отличался лучшими органолептическими показателями, поэтому продолжали эксперимент только с производственной закваской, но изменили материнскую закваску для бифидобактерий на ГМК-2, а для лактобактерий по-прежнему использовали питательную среду ЗЛА. В качестве производственной закваски также использовали обезжиренное стерилизованное коровье молоко. В молоко для бифидобактерий дополнительно вводили стимулятор роста ГМК-3. Результаты экспериментов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Технологические показатели пробиотического напитка

Показатели	pH	M_{pH}	S_{pH}	°T	$M_{°T}$	$S_{°T}$
ОП	5,13 5,07 5,19	5,13	± 0,15	72 76 82	76,6	± 12,73
ЦП	5,06 5,27 5,37	5,23	± 0,39	80 68 70	72,6	± 16,34

Примечание: ОП — напиток на обезжиренном молоке на основе производственной закваски; ЦП — напиток на цельном молоке на основе производственной закваски.

Таким образом, в ходе экспериментов была отработана схема приготовления напитка. В результате проведенных экспериментов можно отметить, что рост B. longum на питательной среде ГМК 2 лучше, чем на питательной среде ГМС Б. Стимулятор роста ГМК-3 положительно влияет на рост бифидобактерий. Также бы-

ли определены оптимальные показатели pH и титруемой кислотности для напитка, которые составили: pH = 5,0–5,2 ± 0,5 для цельного молока и 5,2–5,3 ± 0,5 для обезжиренного молока, титруемая кислотность 70–85 оТ.

Для сравнительной оценки качества готового продукта и его хранимоспособности большое значение имеет динамика численности микроорганизмов в готовом напитке при хранении. Отмечено, что численность микроорганизмов в напитке сохраняется на терапевтически значимом уровне (не менее 1 х 106) до 10 суток включительно. Общая характеристика готового пробиотического напитка представлена в таблице 3.

Таблица 3

Характеристика пробиотического напитка «Плабифин»

Наименование показателя	Характеристика показателя
Вкус и запах	Чистый, кисломолочный или кислосладкий (для сладкого), характерный для бифидосодержащих продуктов, без посторонних привкусов и запахов. Допускается привкус пастеризации, с выраженным вкусом и ароматом, свойственным пастеризованному продукту
Внешний вид и консистенция	Однородная, с нарушенным сгустком. На поверхности продукта допускается незначительное отделение сыворотки
Цвет	Белый с кремовым оттенком, равномерный по всей массе
Кислотность, °Т	65–85
Активная кислотность, ед. pH	4,6–5,3
Количество *B. longum* на конец срока годности, КОЕ/см^3 (г) не менее	10^6
Количество *L. plantarum* на конец срока годности, КОЕ/см^3 (г) не менее	10^6
Срок годности, сут.	5

В итоге разработана нормативно-техническая документация на новый пробиотический кисломолочный напиток. Предусмотрен выпуск напитка с массовой долей жира 3,2, 2,5% и обезжиренного напитка. Обезжиренный вариант «Плабифина» относится к низкокалорийным продуктам, что должно представлять особый интерес для лиц с избыточным весом.

Срок годности напитка ограничен 5 сутками, что (при соблюдении условий хранения) гарантирует высокую численность живых физиологически активных клеток пробиотических микроорганизмов и хорошие органолептические показатели.

Новый пробиотический напиток рассчитан на все возрастные группы населения. Это «живой», экологически чистый продукт, он не содержит каких-либо консервантов, химических вкусовых и ароматических ингредиентов, красителей. Производство данного продукта позволит расширить ассортимент молочных продуктов специального назначения, в том числе детского питания.

Библиографический список

Артюхова С.И., Толстогузова Т.Т. Пробиотический биопродукт для корпоративного питания // Молочная промышленность. 2014. №9. С. 20.

Сергеева И.Я., Каган Я.Р., Отт Е.Ф., Иркитова А.Н. Пробиотический кисломолочный напиток на основе подсырной молочной сыворотки // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока. 2009. №6. С. 20.

УДК 637.146.2:664.762

З.Р. Ходырева, М.А. Вайтанис

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

БИОТЕХНОЛОГИЯ КЕФИРНОГО НАПИТКА ДЛЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ

Разрабатываемые кисломолочные и молочные продукты позволят расширить ассортимент существующих товаров для спортивного питания. Представленная статья посвящена исследованию и разработке кефирного напитка.

Ключевые слова: спортивное питание, белковые продукты, кисломолочный напиток, мальтодекстрин, альбумин.

Z.R. Khodyreva, M.A. Vaytanis

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

BIOTECHNOLOGY KEFIR DRINK FOR SPECIALIZED NUTRITION

Develop dairy and dairy products, will expand the range of available products for sports nutrition. The presented article is devoted to the research and development of kefir drink.

Key words: sports nutrition, protein products, dairy beverage, maltodextrin, albumin.

Немаловажным фактором в развитии и актуализации спорта и здорового образа жизни является разработка продуктов питания, дополняющих эффект полученных физических нагрузок. Еще лет 5 назад специальные продукты для спортивного питания были недоступны для любителей спорта, а на сегодняшний день в Барнауле его реализуют более 10 магазинов и торговых точек.

Основная масса реализуемых продуктов — это изотоники, жидкости, имеющие осмотическое давление, как у плазмы крови. К базовому питанию относятся гейнеры — белково-углеводные коктейли, мультикомпонентные смеси, жидкие шейки и протеиновые батончики. Следует отметить, что большую долю составляют зарубежные производители. Существует большой ассортимент продуктов на основе молочных белков, способствующих улучшению спортивных результатов и росту мышечной массы.

Разработки отечественных высококачественных продуктов с использованием местного сырья и технологии получения высококачественного порошкообразного альбумина и других белковых продуктов не только для специального спортивного питания, но и рекомендуемого для широкого круга населения, занимающегося спортом, является основной задачей.

Обычные продукты по своим биологическим свойствам и химическому составу являются сложными естественными композициями. Отдельную группу среди них оставляют продукты, являющиеся источниками биологически активных компонентов в сбалансированном составе. Наиболее широко они представлены в мясе, печени, фруктах, овощах, зелени и молочных продуктах.

В настоящее время в России ведутся активные разработки специального питания для спортсменов. Ассортимент молочных продуктов для данного сегмента в настоящее время недостаточен. Большие перспективы открываются при разработке специализированных продуктов в результате использования природного баланса молочного и растительного сырья. Большая часть спортивных рационов предусматривает употребление молока с низким содержанием жира и кисломолочных продуктов. Они служат для коррекции пищевого рациона, восполнения дефицита организма человека необходимыми веществами.

На кафедре технологии продуктов питания АлтГТУ разрабатываются новые специализированные продукты на основе молока, растительного сырья и других компонентов. Разработаны кефирный напиток с обжаренной гречневой мукой и подсолнечным компонентом, низкокалорийное мороженое и протеиновый батончик. В основу рецептур легли обоснованные предпочтения опрошенных респондентов, занимающихся спортом и ведущих активный образ жизни.

Кисломолочные напитки смешанного брожения соединяют в себе достоинства обыкновенного кефира, гречневой муки и обжаренного ядра подсолнечника — питательного и полезного продукта. Освоение технологии производства этого продукта позволит предприятиям-производителям своевременно занять место на российском рынке молочной продукции.

Возможность изменения и регулирования реологических показателей молочных продуктов имеет большое значение в формировании их технологических и реологических свойств. При этом особенно ценно, когда компонент обеспечивает выполнение нескольких функций: обогатителя и структурообразователя. С учетом особенностей питания спортсменов и современных тенденций в разработке кисломолочных напитков научно обосновано использование растительного белка и молочного сырья. В качестве структурообразователя использовали мальтодекстрин. Это крахмальный продукт в виде сыпучего белого порошка, получаемый в результате энзимной деполимеризации водного раствора кукурузного крахмала с последующей сушкой методом распыления. Он характеризуется низкой сладостью, высокой вязкостью, быстрой растворимостью, высокой влагоемкостью.

Мальтодекстрины имеют разнородный состав смеси сахаридов и в зависимости от декстрозного эквивалента проявляют эмульгирующие, стабилизирующие, склеивающие, разрыхляющие свойства, продлевающие свежесть, подчеркивают вкус и запах, замедляют процесс кристаллизации. Изменяют степень вязкости продукта, обладает эффектом сгущения. Мальтодекстрин добавляют в продукты с целью улучшения их консистенции, используют для сохранения и переноса свойств вкусовых и ароматизирующих добавок.

Он улучшает и облегчает процесс растворения белков. Тормозит процесс естественного изменения цвета. В зависимости от степени деполимеризации может выступать как формообразователь или разрыхлитель. Используют в производстве при изготовлении приправ и соусов, продуктов быстрого приготовления, в производстве напитков, молочной промышленности, при изготовлении мороженого, в спортивном питании, детском питании, диетическом питании.

Добавление мальтодекстрина в кисломолочные продукты позволяет увеличить способность эмульгирования. При его добавлении не меняется оригинальный вкус, быстро всасывается человеческим организмом. Повышается густота, стабилизация продукта, уменьшается возможность выпадения осадка.

Одним из самых популярных продуктов спортсменов являются гейнеры. Это напиток, состоящий большей частью из углеводов, и при этом также содержащий белок. Он необходим для тех, кто решил набрать вес или хочет быстро поправиться, поскольку содержит много углеводов, и белок (протеин) — незаменимый строительный материал для роста мускулатуры и набора мышечной массы.

Гейнеры обычно содержат от 10 до 35% белка (т.е. 35 г на 100 г субстрата), 80–60% углеводов и различаются в первую очередь процентным соотношением макронутриентов. Второй характеристикой белково-углеводных энергетиков является видовой состав каждого нутриента. У белка — разная основа (сыворотка, молочный белок, казеин, соевый, яичный белок). У углеводов — разная длина молекулярной цепи (вспоминайте классификацию) и разный гликемический индекс.

Одним из вариантов расширения ассортимента углеводно-белковых напитков стала разработка кефирного напитка с добавлением подсолнечного белка и мальтодекстрина. Для приготовления модельных растворов использовали сухой концентрат растительных белков, полученный методом осаждения, и животных белков, полученных методом ультрафильтрации. Концентрат белков растворяли в теплой воде от 30 до 35 °С, тщательно перемешивали и выдерживали от 15 до 20 мин для набухания белков. Массовая доля сухих веществ в восстановленном растворе гречневых белков составляла 18%, альбумина — 17,98%, что соответствует значениям нативных растительных и животных белков, полученных в производственных условиях.

В ходе эксперимента в нормализованное по жиру молоко добавляли следующие дозы мальтодекстрина — 1, 3 и 6%, количество закваски — 10%. В качестве контроля был взят кефир 1% жирности.

На первом этапе осуществляли органолептический анализ образцов.

Органолептическую оценку кисломолочного напитка проводили методом закрытых дегустаций по соответствующей шкале, представленной в таблице. Контролировали следующие показатели: запах, вкус, консистенцию, цвет и внешний вид, которым было присвоено количественное выражение в баллах. Для органолептической оценки кисломолочных напитков с различным содержанием мальтодекстрина был выбран кисломолочный напиток с массовой долей жира 1%, так как он имеет лучшие органолептические показатели, чем обезжиренный кисломолочный напиток.

Изменение титруемой кислотности в процессе хранения образцов кисломолочных напитков с различным количеством внесения подсолнечного и животного белка

Время, ч	Изменение кислотности, °Т						
	Контроль	Растительный белок			Животный белок		
	кефир	1% подсолн. белка	3% подсолн. белка	6% подсолн. белка	1% альбумина	3% альбумина	6% альбумина
Через 24 ч	85	82	84	85	100	106	112
Через 48 ч	95	90	93	96	134	136	142
Через 72 ч	110	106	108	110	156	166	200
Через 96 ч	120	108	112	114	168	178	210

Модельный образец напитка с содержанием 6% мальтодекстрина имел следующие показатели: структура — расслаивающаяся, вкус — кисломолочный; с содержанием 3% мальтодекстрина: структура — не расслаивающаяся, вкус — кисломолочный и образец с содержанием 1% мальтодекстрина и добавлением подсолнечного белка имеет следующие показатели: структура является однородной и нерасслаивающейся, цвет — белый с кремовым оттенком, вкус — кисломолочный. Анализ данных показал, что модельный образец, содержащий 1% углеводного компонента, является наиболее подходящим для создания кисломолочного напитка, но с точки зрения пополнения энергетического запаса в организме и восстановления гликогена в посттренировочный период наиболее подходящим является образец с содержанием мальтодекстрина в количестве 3%.

В процессе корректировки рецептуры были использованы белки животного и растительного происхождения. При определении сроков годности кисломолочного углеводно-белкового напитка для спортивного питания при стандартных режимах холодильного хранения при температуре от 2 до 6 °С учитывались следующие пока-

затели: титруемая и активная кислотность, влагоудерживающая способность сгустков, общее количество молочнокислых микроорганизмов, БГКП, дрожжи и плесени.

Динамика изменения кислотности сквашенного напитка с добавлением разного количества растительных и животных белков представлена в таблице, в качестве контроля был взят кефир с массовой долей жира 1%.

Наибольшая интенсивность кислотонакопления в образце с добавлением альбумина. Это связано с высокой начальной титруемой кислотностью белка, содержащего на поверхности аминокислоты, проявляющего основные свойства.

На десятые сутки хранения показатели титруемой кислотности кисломолочного напитка возрастали на 12%. Водоудерживающая способность напитка в процессе хранения увеличивалась в 1,8 раза. Микробиологические исследования показали наличие микроорганизмов, соответствующих заквасочной микрофлоре, посторонней микрофлоры обнаружено не было. На конец срока хранения количество молочнокислых микроорганизмов составляло от $0{,}5 \cdot 10^8$ КОЕ/г до $0{,}9 \cdot 10^8$ КОЕ/г. Количество БГКП в продукте не превышало требуемого значения.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что кисломолочный углеводно-белковый напиток для спортивного питания может храниться с учетом коэффициента запаса 1,5 в течение 11 суток при температуре от 2 до 6 °С.

УДК 579.67:579.22

Б.Г. Цугкиев, Р.Г. Кабисов, А.Г. Петрукович, Э.В. Рамонова

Горский государственный аграрный университет (Владикавказ, Россия)

ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫДЕЛЕННЫХ В РСО-АЛАНИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Поиск новых штаммов молочнокислых микроорганизмов, перспективных в качестве заквасок, и пробиотиков является приоритетным направлением развития различных отраслей пищевой промышленности. На современном этапе развития пищевой биотехнологии актуальным является развитие научных подходов к созданию продуктов здорового, рационального питания, действие которых прежде всего направлено на профилактику и предупреждение развития многих, в том числе хронических заболеваний. Рассмотрен ряд вопросов, касающихся выделения чистых культур молочнокислых микроорганизмов из различных природных субстратов, установления их видовой принадлежности, отбора пробиотических культур с высоким и стабильным потенциалом, изучения их биологических особенностей и технологических свойств, созданию продуктов функционального назначения, которые имеют важную роль в жизнедеятельности человека. Научно обоснована и практически доказана эффективность влияния пробиотических штаммов молочнокислых бактерий в кормлении молодняка свиней и птицы.

Ключевые слова: селекция, молочнокислые микроорганизмы, пробиотики, синбиотики, продукты функционального питания, кормление животных.

B.G. Zugkiev, R.G. Kabisov, A.G. Petrukovich, E.V. Ramonova

Gorsky State Agrarian University (Vladikavkaz, Russiya)

THE CHARACTERISTIC OF THE LACTIC BACTERIA ALLOCATED IN RSO-ALANIYA AND THEIR PRACTICAL USE

Searching for new strains of lactic acid microorganisms perspective as ferments and probiotics is a prior trend in development of various branches in food industry. At the current stage of food biotechnology development it is actual to develop scientific methods for mak-

ing products for healthy and rational diet, which first of all, can prevent many including chronical diseases. A number of questions concerning the secretion of pure culture lactic acid microorganisms from different natural substrates, ascertainment of their species, selection of probiotic cultures with high and stable potential, studying their biological and technological characteristics, making products for functional diet which play an important role in human life have been considered. The positive influence of probiotic strains of lactic acid bacteria in feeding young pigs and poultry has been scientifically proved.

Key words: breeding, lactic acid microorganisms, probiotics, synbiotics, functional foods, animal nutrition.

В настоящее время одним из перспективных и востребованных направлений микробиологии является поиск новых штаммов для создания препаратов, обладающих ярко выраженными пробиотическими свойствами [Соловьева, Точилина, Новикова, 2010]. Новые молочные продукты с использованием пробиотиков формируют один из наиболее быстрорастущих на сегодняшний день сегментов отрасли [Фролова, 2008; Головач, 2004].

Специалисты стремятся подобрать такие закваски, которые бы сокращали продолжительность сквашивания молока, обладали пробиотическими свойствами, обеспечивали отличные органолептические характеристики кисломолочного продукта [Карычева, 2007].

Молочнокислые бактерии значительно распространены в окружающей среде, организме животных и человека и являются, как правило, весьма ценными микроорганизмами в местах их обитания.

Рассматривается ряд вопросов, касающихся выделения чистых культур молочнокислых микроорганизмов из различных природных субстратов, установления их видовой принадлежности, отбора пробиотических культур с высоким и стабильным потенциалом, изучены их биологические особенности и технологические свойства. Установлен антагонизм 15 местных штаммов молочнокислых микроорганизмов, выделенных в РСО-Алания, по отношению к 9 представителям патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

На основе изученных штаммов разных видов молочнокислых бактерий получены новые бактериальные закваски, пробиотические препараты и продукты функционального питания. Работа вносит существенный вклад в использование заквасок прямого внесения в пищевой промышленности, агропромышленном и биотехнологическом производстве.

Особую значимость изучение антагонистических свойств лактобактерий приобретает в свете внедрения в технологические циклы метода совместного культивирования, который является перспективным при создании препаратов и продуктов на основе нескольких штаммов лактобактерий [Рожкова, 2006].

Проявляемый лактобактериями антагонизм по отношению к многим сапрофитным и болезнетворным бактериям обусловлен не только продуцированием кислот, но и выделяемыми ими специфическими антибиотическими веществами [Рожкова, 2006]. Антибиотическая активность комбинированной закваски значительно выше по сравнению с таковой из отдельных культур [Хамагаева, Митыпова, 2006]. В.И. Ганина и соавторы установили, что штаммы, выделенные в тех регионах, в которых используются, лучше приспосабливаются к местному сырью [Ганина, Ананьева, Рожкова, 2005].

В условиях РСО-Алания сотрудниками НИИ биотехнологии Горского государственного аграрного университета (Горский ГАУ, Владикавказ) выделено 148 штаммов лактобактерий из 25 различных природных источников (растения, моло-

ко, овощи, кефирные грибки, фекалии сельскохозяйственных животных) [Ганина, Ананьева, Рожкова, 2005].

Для выделения чистых культур микроорганизмов отбирали пробы из различных природных источников: от культурных и дикорастущих в высокогорье растений, квашеных и свежих овощей, из кефирного грибка, свежего и самоквасного молока, из фекалий поросят, телят и ягнят.

Видовую принадлежность местных штаммов лактобактерий устанавливали по методике Л.А. Банниковой (1975).

Материалом для дальнейших исследований послужили чистые культуры 16 штаммов молочнокислых микроорганизмов и дрожжей, выделенных в РСО-Алания и депонированные во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИгенетика (ВКПМ): Streptococcus thermophilus ВКПМ B-10089, Lactobacillus gallinarum ВКПМ B-10131, Sacharomyces unisporus ВКПМ Y-3416, Lactobacillus gallinarum ВКПМ B-10133, Lactobacillus paracasei ВКПМ B-10092, Lactobacillus gallinarum ВКПМ B-10132, Lactobacillus gallinarum ВКПМ B-10134, Enterococcus durans ВКПМ B-10093, Enterococcus hirae ВКПМ B-10090, Enterococcus hirae ВКПМ B-10091, Enterococcus hirae ВКПМ B-10088, Enterococcus durans ВКПМ B-8731, Enterococcus hirae ВКПМ B-9069, Lactococcus casei ВКПМ B-8730, Enterococcus faecium ВКПМ B-9070, Enterococcus faecium ВКПМ B-9071.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных физиолого-биохимических исследований нами определена видовая принадлежность 15 местных штаммов лактобактерий. Установленная нами видовая принадлежность микроорганизмов подтверждена ФГУП ГосНИИгенетика проведением анализа 16S РНК, с присвоением им коллекционных номеров. Они депонированы в ВКПМ.

В таблице приведена характеристика лактозосбраживающих бактерий.

Характеристика штаммов бактерий

Вид микроорганизма и коллекционный номер	Источник выделения	Морфология	Скорость свертывания молока, ч	Предельная кислотность, °Т
1	*2*	*3*	*4*	*5*
Ent. durans ВКПМ B-8731	Огурец	Кокки	5	112
Ent. durans ВКПМ B-10093	Кефирный грибок	Кокки	9	92
Ent. Hirae ВКПМ B-9069	Якон	Кокки	5	142
Enterococcus faecium ВКПМ B-9070	Батат	Кокки	6	125
Enterococcus faecium ВКПМ B-9071	Гречиха сахалинская	Кокки	6	121
Ent. hirae ВКПМ B-10088	Кефирный грибок	Кокки	9	100
Ent. hirae ВКПМ B-10090	Люцерна	Кокки	9	201
Ent. Hirae ВКПМ B-10091	Кефирный грибок	Кокки	9	95
Str. Thermophilus ВКПМ B-10089	Гвоздика песчаная	Кокки	6	120

Окончание таблицы

1	*2*	*3*	*4*	*5*
L. casei ВКПМ В-8730	Фекалии поросят	Палочки	9	235
L. paracasei ВКПМ В-10092	Квашеная капуста	Палочки	9	343
Lbm. gallinarum ВКПМ В-10131	Кефирный грибок	Палочки	6	300
Lbm. gallinarum ВКПМ В-10132	Гвоздика песчаная	Палочки	6	337
Lbm. gallinarum ВКПМ В-10133	Мальва приземистая	Палочки	6	357
Lbm. gallinarum ВКПМ В-10134	Кефирный грибок	Палочки	7	288

Установлено (см. табл.), что изучаемые штаммы разных видов микроорганизмов существенно отличаются друг от друга по скорости сквашивания молока и показателю предельной кислотообразующей способности.

Большое практическое значение при производстве кисломолочных продуктов имеет скорость образования сгустка. Высокая активность кислотообразования позволяет повысить производительность труда за единицу времени. Скорость сквашивания молока штаммами микроорганизмов селекции Горского ГАУ составила 5–9 часов.

Важное технологическое значение имеет определение предельной кислотности в сквашенном молоке, так как от этого показателя зависят качество, условия и срок хранения готового продукта, а также частота перевивок.

Наиболее высоким предельным уровнем кислотообразования обладают палочковидные штаммы — 235–357 °Т, а наименьшей — кокковидные (92,0–146,9 °Т).

Содержание в кисломолочных продуктах живых клеток молочнокислых бактерий является одним из основных показателей их качества. Установлено, что в образцах молока, сквашенного штаммами бактерий селекции Горского ГАУ, микробное число является высоким и составляет 10^9–10^{10} КОЕ/см^3.

У каждого отдельного штамма показатель антагонистической активности и способность синтезировать антибиотические вещества варьирует, что подтверждает необходимость проведения исследований по проявлению этого свойства у пробиотических культур, находящихся к тому же в разных условиях, и выделенных из различных субстратов.

В связи с этим нами установлена методом диффузии в агар антагонистическая активность штаммов молочнокислых бактерий, выделенных в РСО-Алания, по отношению к патогенной и условно-патогенной микрофлоре. В качестве тест-культур использовались условно-патогенные и патогенные бактерии: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus epidermidis, Proteus vulgaris, Moraxella catarrhalis, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Bacillus mesentericus из баклаборатории Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии по РСО-Алания».

Зону задержки роста измеряли по диаметру (включая диаметр цилиндра) с помощью линейки. Наличие роста тест-микробов свидетельствует об их резистентности к данной культуре лактобактерий, а отсутствие роста является показателем высокой чувствительности микробов к антибиотическим веществам, синтезируемым определенным штаммом лактобактерий.

Показателем малой чувствительности является зона стерильности до 15 мм, на достаточную чувствительность тест-микробов к воздействию молочнокислых бактерий указывает зона в 15–25 мм, о высокой чувствительности свидетельствует зона подавления роста более 25 мм. Следовательно, чем больше зона подавления роста тест-микробов, тем выше их чувствительность к данным штаммам молочнокислых бактерий.

Установлено, что зона стерильности по отношению к Escherichia coli составила от 17 до 34 мм, Staphylococcus aureus — от 21 до 35 мм, Staphylococcus saprophyticus — от 12 до 30 мм, Staphylococcus epidermidis — от 12 до 28 мм, Proteus vulgaris — от 13 до 29 мм, Moraxella catarrhalis — от 13 до 32 мм, Pseudomonas aeruginosa — от 12 до 30 мм, Klebsiella pneumoniae — от 13 до 18 мм, Bacillus mesentericus — от 14 до 31 мм.

Исследования показали, что наибольшую антагонистическую активность в отношении большинства представителей патогенной и условно-патогенной микрофлоры проявляют штаммы молочнокислых бактерий Lbm.gallinarum ВКПМ В-10131, Lbm.gallinarum ВКПМ В-10132, Lbm.gallinarum ВКПМ В-10134 и L.casei ВКПМ В-8730.

Следует отметить, что исследуемые штаммы молочнокислых микроорганизмов обладают неодинаковой способностью ингибировать рост патогенной и условно-патогенной микрофлоры, что необходимо учитывать при подборе чистых культур для получения пробиотических препаратов для профилактики и лечения тех или иных кишечных болезней.

Помимо использования штаммов местной селекции непосредственно в кормах, нами разработаны технологии, когда молочнокислые микроорганизмы применяются для консервирования кормов [Цугкиев и др., 2012]. Так, штаммы Ent. hirae, Ent. faecium и Ent. faecium используются для консервирования кормовых растений, в результате чего удается ускорить сроки консервирования и повысить биологическую ценность силосуемых кормов.

Таким образом, полученные результаты позволяют считать возможным и целесообразным использование чистых культур молочнокислых микроорганизмов местной селекции и их ассоциаций, обладающих высокой антагонистической активностью, для составления бактериальных заквасок, пробиотических препаратов и функциональных продуктов питания.

Библиографический список

Соловьева И.В., Точилина А.Г., Новикова Н.А. Изучение биологических свойств новых штаммов рода Lactobacillus. Общая биология // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2010. №2 (2). С. 462–468.

Фролова М.Д. Особенности разработки мезофильных заквасок // Молочная промышленность. 2008. №6. С. 70.

Карычева О.В. Новые культуры для кисломолочных продуктов в ассортименте компании «Христиан Хансен» // Молочная промышленность. 2007. №11. С. 28.

Головач Т.Н. Опыт совместного культивирования лактобацилл // Микробиологический журнал. 2004. №6. С. 23–25.

Рожкова Т.В. Российский рынок заквасочных культур // Молочная промышленность. 2006. №3. С. 23.

Хамагаева И.С., Митыпова Н.В. Комбинированная закваска для кисломолочных продуктов // Молочная промышленность. 2006. №9. С. 35.

Ганина В.И., Ананьева Н.В., Рожкова Т.В. Интегрированный подход к созданию отечественных стартовых культур прямого внесения // Молочная промышленность. 2005. №11. С. 23.

Цугкиев Б.Г., Кабисов Р.Г., Петрукович А.Г., Рамонова Э.В., Хозиев А.М., Цугкиева И.Б. Практическое использование лактобактерий селекции Горского ГАУ в решении актуальных вопросов агропромышленного комплекса // Известия Горского ГАУ. 2012. Ч. 3, т. 49. С. 470–480.

Петрукович А.Г., Цугкиев Б.Г. Использование зеленой массы сильфии пронзеннолистной, сиды обоеполой, девясила высокого и топинамбура для заготовки силоса // Кормопроизводство. 2007. №7. С. 28–29.

УДК 628.161.2

И.Г. Чигаев, Л.Ф. Комарова

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ОЧИСТКА ПОДЗЕМНЫХ ВОД С ПРИМЕНЕНИЕМ НОВЫХ ОСАЖДЕННЫХ КОМПОЗИТНЫХ МЕМБРАН

Рассмотрены способы очистки подземных вод с применением осажденных мембран на основе минеральных и органических компонентов, приведены результаты исследований процесса обезжелезивания на полимерных и осажденных мембранах. Предложен способ очистки подземных вод с комбинированным применением осажденных и полимерных мембран.

Ключевые слова: очистка воды, мембраны, мембранные методы, обезжелезивание.

I.G. Chigaev, L.F. Komarova

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

CLEANING GROUNDWATER USING NEW DEPOSITION OF COMPOSITE MEMBRANES

The methods of purifying groundwater using membranes deposited on the basis of mineral and organic components, the results of research on the process of iron removal and deposition of polymer membranes. A method for purification of groundwater and the combined use of the deposited polymer membranes.

Key words: water treatment, membranes, membrane methods, removal of iron.

Несмотря на то, что подземные воды значительно превосходят по качеству поверхностные, они не всегда удовлетворяют требованиям, предъявляемым к питьевым водам. В подземных водах Западной Сибири и Алтайского края наблюдаются значительные превышения по ионам железа (до 30 ПДК), марганца (до 10 ПДК) и общей жесткости [Алферова, 2008, с. 34–39; Государственный доклад…, 2015, с. 56]. Методы умягчение подземных вод разработаны и применяются достаточно широко, в том числе с применением обратного осмоса и нанофильтрации. Для очистки подземных вод от железа для получения воды питьевого качества на сегодняшний день используются различные способы. Наибольшее распространение получили методы, основанные на фильтровании через модифицированную загрузку, активным компонентом которой является оксид марганца (IV), реже используется технология очистки, включающая аэрацию и фильтрование через песчаную загрузку. К основным недостаткам указанных методов относятся склонность к истиранию или длительная наработка каталитического слоя, снижение эффективности очистки к концу фильтроцикла и большое количество воды, требуемой для регенерации фильтров [Чигаев, 2014, с. 28–31]. Следует отметить, что повышенное содержание железа не только вызывает зарастание трубопроводов и запорной арматуры, приводит к браку в пищевой и химической промышленности, но и является опасным

для здоровья населения, поэтому разработка высокоэффективных методов обезжелезивания является актуальной задачей.

Перспективным методом очистки подземных природных вод является мембранный способ разделения, в том числе с применением осажденных мембран. Реализация этого подхода требует разработки технологии очистки с помощью существующих мембран, включая выбор их оптимального типа, режима использования и способов регенерации, а также разработки способа получения новых мембран.

Для обезжелезивания наиболее предпочтителен метод ультрафильтрации, являющимся промежуточным между обратным осмосом и микрофильтрацией и обладающий достоинствами обоих методов. Ультрафильтрационные полимерные мембраны отличаются высокой проницаемостью по сравнению с обратноосмотическими, при этом обладают значительно лучшей селективностью по молекулярным и высокомолекулярным соединениям по сравнению с микрофильтрационными мембранами.

Не менее интересно применение для очистки железосодержащих вод осажденных композитных мембран, которые отличаются значительно большей проницаемостью по сравнению с полимерными. Поэтому был предложен способ нанесения селективного слоя на поверхность микрофильтра путем пропускания через него раствора или суспензии, содержащего мембранообразующие компоненты (рис. 1).

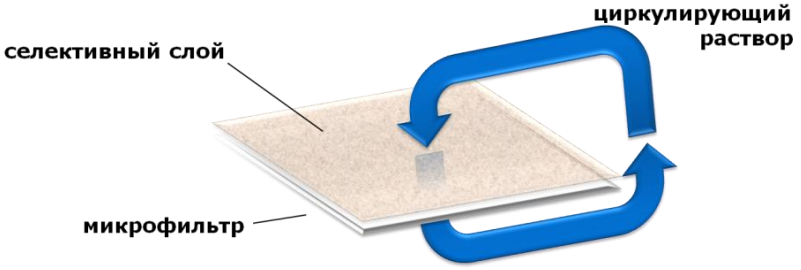


Рис. 1. Процесс нанесения селективного слоя

В работе исследованы три типа компонентов: 1 — чистый бентонит, 2 — бентонит с добавлением полиакриламида (ПАА) в качестве связующего, 3 — бентонит с добавлением полимера диаллилдиметиламмония хлорида (поли-ДАДМАХ) в качестве связующего (растворы с различными концентрациями компонентов). Процесс нанесения заключался в пропускании через микрофильтрационную полимерную подложку с размером пор 5 мкм приготовленной суспензии в рециркуляционном режиме без сброса концентрата (тупиковый режим). Процесс проводился до осветления раствора. Время нанесения составляло от 2 до 4 часов в зависимости от состава раствора.

При изучении мембран на основе чистого бентонита было установлено, что при его малых содержаниях в суспензии эффективность очистки практически не увеличивается по сравнению с чистой подложкой. При увеличении концентрации бентонита наблюдается повышение эффективности очистки до 50%, однако через 20 минут она снижается до 20%. Дальнейшее увеличение количества бентонита в суспензии для нанесения мембраны не приводит к повышению эффективности, поэтому были исследованы осажденные мембраны из раствора бентонита и связующего полимера (ПАА и полиДАДМАХ).

На рисунке 2 представлены зависимости эффективности очистки от железа для осажденных мембран на основе бентонита и органических полимеров. Наибольшая эффективности очистки наблюдается у мембран на основе бентонита и ПАА, однако их проницаемость значительно снижается в течение первых 20 минут процесса.

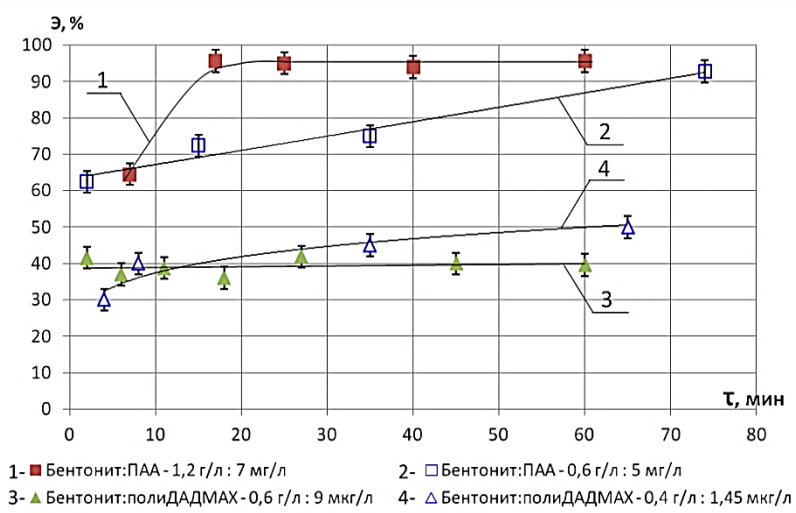


Рис. 2. Зависимость эффективности очистки от соединений железа для осажденных мембран во времени ($C_{нач}$ = 2 мг/л)

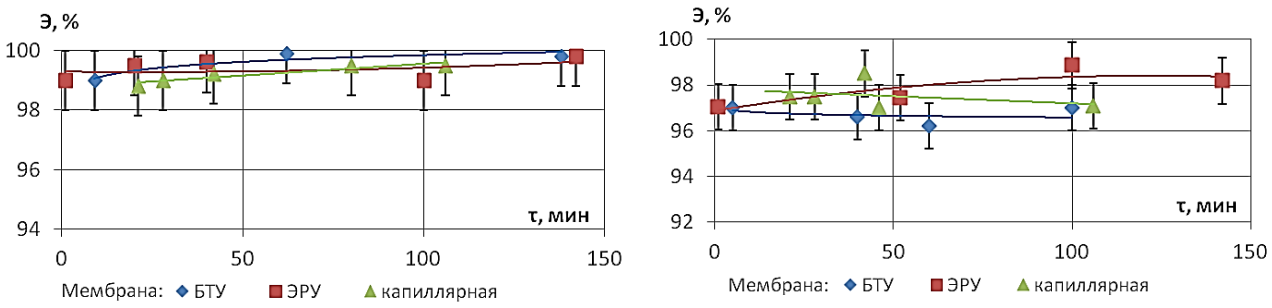
Проницаемость мембран на основе бентонита и полиДАДМАХ отличается более высокими значениями ($23 \cdot 10^3$ л/(м²·ч)), при этом меньше снижается во времени. С учетом того, что нанесение мембраны занимает от 2 до 4 часов, а фильтроцикл мембран на основе бентонита и ПАА не превышает 20 минут, при этом наблюдается нестабильность очистки, наиболее предпочтительно использование для обезжелезивания осажденных мембран на основе бентонита и полиДАДМАХ. Однако невысокая эффективность не позволяет использовать данные мембраны для получения питьевых вод с исходным содержанием железа выше 0,5 мг/л, что приводит к необходимости комбинации осажденных и полимерных мембран.

На следующем этапе исследований были получены экспериментальные данные по обезжелезиванию на ультрафильтрационных полимерных мембранах различных конструкций. Исследования проводились на капиллярных мембранах, производства компании FilCORE (Юж. Корея), трубчатых мембранах БТУ и рулонных элементах ЭРУ на основе мембран УПМ-20 и УПМ-100, производства ЗАО «Владипор» (Россия).

Эффективность очистки на всех мембранных элементах, при исходной концентрации Fe^{2+} $C_{нач}$ = 2 мг/л, превышала значение 99% (рис. 3, *а*). При увеличении исходной концентрации до 10 мг/л эффективность очистки составляла от 96 до 98% (рис. 3, *б*), при этом содержание железа в фильтрате для трубчатых (БТУ), рулонных (ЭРУ) и капиллярных мембран колебалось от 0,3 мг/л до 0,4 мг/л.

Наилучшие результаты по изменению проницаемости были выявлены у рулонных элементов ЭРУ. При исходной концентрации железа С = 10 мг/л снижение проницаемости составляет не более 4% от первоначальной. Такой характер кривых объясняется наилучшей гидродинамикой в мембранном канале, способствующей размыванию осадка. Поэтому, с точки зрения продолжительности фильтроцикла, для удаления из воды соединений железа наиболее подходят рулонные ультрафильтрационные элементы.

На основании проведенных исследований была разработана принципиальная технологическая схема очистки подземных вод от соединений железа, с комбинированным использованием осажденных и полимерных ультрафильтрационных мембран (рис. 4).



а) б)

Рис. 3. Зависимость эффективности очистки (Э) от соединений железа на различных мембранах (материал — полисульфон):
а) $C_{нач}$ = 2 мг/л; б) $C_{нач}$ = 10 мг/л от времени (τ)

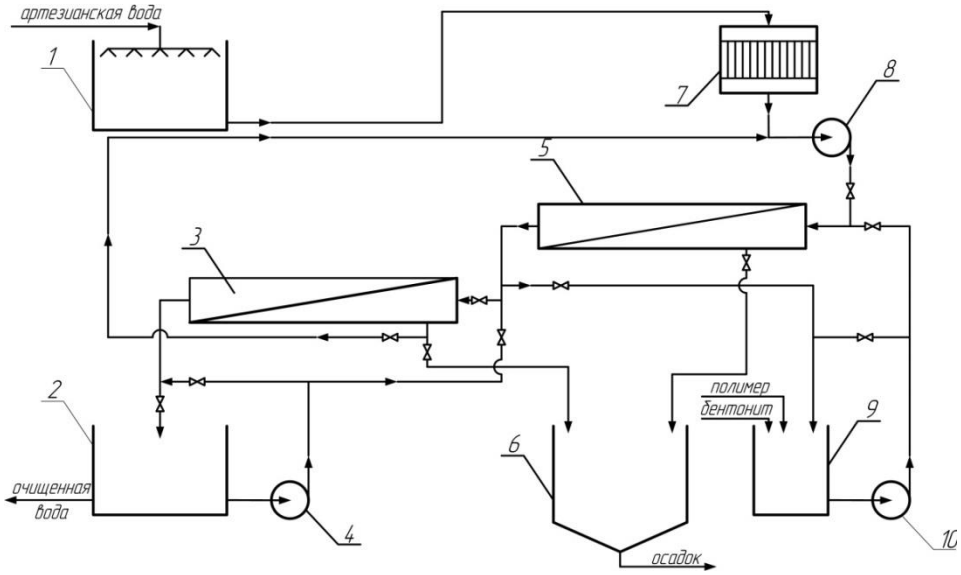


Рис. 4. Принципиальная технологическая схема обезжелезивания подземных вод мембранным методом:

1 — приемная емкость; 2 — емкость для очищенной воды; 3 — модуль на основе ультрафильтрационной рулонной мембраны; 4, 8, 10 — насосы; 5 — модуль на основе осажденной мембраны; 6 — сборник промывных вод; 7 — механический фильтр; 9 — емкость для суспензии мембранообразующих компонентов

Библиографический список

Алферова Л.И., Дзюбо В.В. Ресурсы подземных вод для питьевого водоснабжения населения сибирского региона // Экология и промышленность России. 2008. №2. С. 34–39.

Государственный доклад «О состоянии и охране окружающей среды в Алтайском крае в 2013 году» [Электронный ресурс]. URL: http://www.mnr.gov.ru/regulatory/list.php?part=1101/

Чигаев И.Г., Комарова Л.Ф. Современные способы обезжелезивания подземных вод с применением мембранных технологий // Водоочистка. 2014. №6. С. 28–31.

УДК 664.137

Н.Ю. Шарова, Т.В. Выборнова, А.А. Коврыжина, Т.Н. Михайлова
Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок (Санкт-Петербург, Россия)

БИОСИНТЕЗ БЕТА-ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗЫ ШТАММАМИ ASPERGILLUS NIGER — ПРОДУЦЕНТАМИ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

Продуценты лимонной кислоты — штаммы микромицета Aspergillus niger при изменении условий культивирования на углеводсодержащих средах обладают способностью продуктивно синтезировать гидролазу β-фруктофуранозидазу, которая разрешена в странах ЕС в качестве пищевой добавки Е1103, фермент в России не производится и поставляется из-за рубежа.

Ключевые слова: штаммы Aspergillus niger, продуцент, лимонная кислота, β-фруктофуранозидаза, биосинтез, сахар кристаллический.

N. Yu. Sharova, T.V. Vybornova, A.A. Kovryzhina, T.N. Mikhaylova
All-Russian Research Institute of food additives (St. Petersburg, Russia)

BETA-FRUKTOFURANOSIDASASE BIOSYNTHESIS BY ASPERGILLUS NIGER STRAINS — PRODUCERS OF CITRIC ACID

Strains of micromycete Aspergillus niger are producers of citric acid at change of conditions of cultivation on carbohydrate medium productively synthesize β-fructofuranosidase which is resolved in EU countries as a food additive of E1103, enzyme in Russia isn't made and delivered from abroad.

Key words: Aspergillus niger strains, producer, lemon acid synthesize β-fructofuranosidase, biosynthesis, sugar crystal.

В настоящее время отечественный рынок испытывает существенный недостаток в пищевых ингредиентах. Среди них значительную долю занимают продукты микробиологического синтеза. В основном их получают как индивидуальные вещества, являющиеся целевыми монопродуктами технологического процесса. К их числу относятся широко используемые в пищевой промышленности лимонная кислота и ферменты — биокатализаторы гидролиза углеводов.

Лимонная кислота (Е330) — известный подкислитель и регулятор pH пищевой системы, антиоксидант и комплексообразователь, используется в медицине, фармакологии, бытовой химии и др. В России потребность в лимонной кислоте в два-три раза превышает объем ее производства, который обеспечивается лишь одним профильным заводом (ООО «ЦИТРОБЕЛ», Белгород).

Ферментные препараты, катализирующие гидролиз углеводов, востребованы в пивоварении, виноделии, производстве спирта, фруктовых и овощных соков, инвертного сиропа, хлебопечении, переработке крахмала. В России масштабное производство ферментов практически отсутствует, и потребность в них восполняется в основном за счет импортных поставок. К ним относится β-фруктофуранозидаза (синонимы: инвертаза, сахараза; класс гидролаз (КФ 3.2.1.26)), катализирующая гидролиз β-D-фруктофуранозидов, в том числе сахарозы, на D-фруктозу и глюкозу. Фермент β-фруктофуранозидаза допускается к использованию в производстве пищевых продуктов и носит статус пищевой добавки Е-1103, разрешенной к применению в странах ЕС. В процессе производства пищевых продуктов инактивируется. Фермент предотвращает кристаллизацию сахаров в кондитерских изделиях,

способствует замедлению процесса брожения в технологиях, использующих высокие концентрации сахара, стабилизации консистенции, усилению вкусовых качеств, продлению сроков хранения готовой продукции. В качестве вспомогательного технологического средства β-D-фруктофуранозидаза используется для гидролиза сахарозы при получении инвертированного сиропа, этанола и фруктозы из сахарозы [Назаренко, 2014, с. 3; Кулёв, 2014, с. 7].

В России этот фермент не производится, имеются сведения о лабораторных исследованиях в данном направлении [Островский и др., 2000, с. 1; Букова, 2000, с. 2].

За рубежом в качестве продуцента β-D-фруктофуранозидазы используют штаммы дрожжей, пенициллов, аспергиллов [Habib Ullah Nadeem, 2011, p. 2; Ottoni et al., 2012, p. 49; Ana Luísa Dominguez et al., 2013, p. 7]. Продуктивно синтезируют этот фермент представители микромицета Aspergillus [Rubio et al., 2006, p. 602; Flores-Gallegos et al., 2012, p. 2]. Штаммы Aspergillus niger используются для промышленного получения не только ферментов, но и лимонной кислоты [Никифорова, 2005, с. 20]. Распространенным углеводным субстратом для биосинтеза β-D-фруктофуранозидазы и лимонной кислоты при их получении в качестве индивидуальных целевых метаболитов является сахароза, содержащаяся в сахаре кристаллическом, сахаре-сырце, а также отходе сахарного производства — мелассе.

Целью работы является исследование способности штаммов Aspergillus niger — продуцентов лимонной кислоты к биосинтезу β-фруктофуранозидазы.

В работе использовали промышленные штаммы Aspergillus niger Л-4, Л-7 и В-3 из коллекции ФГБНУ ВНИИПД, являющихся активными продуцентами пищевых кислот при культивировании на сахарозоминеральных средах. Представители рода Aspergillus продуктивно синтезируют фермент в присутствии специфического индуктора — сахарозы.

Сырьем являлся сахар кристаллический. Ферментацию сахарозоминеральной среды с массовой концентрацией сахарозы штаммами аспергиллов проводили периодическим способом в условиях шейкера-инкубатора Multitron (INFOS, Швейцария) в колбах вместимостью 750 см^3 и в ферментаторе Biostat®Cplus — C20-3MO (Германия) с рабочим объемом 20 дм^3. Массовая концентрация сахара в среде при ферментации в колбах составила (150 ± 5) г/дм^3, объем сахарозоминеральной среды — (50 ± 5) см^3. Температура проведения процесса на стадии получения посевного мицелия поддерживалась на уровне (36 ± 1) °С, на стадии ферментации (32 ± 1) °С. Длительность биотехнологического процесса на стадии получения посевного мицелия составила 48 ч, на стадии ферментации 120 ч, режим перемешивания культуральной среды — (230 ± 2) оборотов/мин. Массовая концентрация сахара в среде при культивировании аспергилла в ферментаторе была 70 г/дм^3 для «короткого» цикла и 150 г/дм^3 — для «стандартного» цикла, объем сахарозоминеральной среды — соответственно 10 и 14 дм^3, длительность процесса на стадии получения посевного мицелия составила 48 ч, на стадии ферментации 120 ч, режим перемешивания — от 120 до 350 об./мин.

В результате экспериментов с использованием шейкера-инкубатора установлено, что штаммы Aspergillus niger продуктивно синтезируют и секретируют β-фруктофуранозидазу на первые-вторые сутки ферментации. В мицелии активность в этот период находилась в интервале (0,05–0,25) ед. в пересчете на 1 г мицелиальной массы. Наибольший уровень ферментативной активности в нативном растворе зафиксирован на вторые сутки процесса. Активность β-фруктофуранозидазы для штамма Л-4 составила (2,21 ± 0,04) ед./см^3, для штамма Л-7 (2,47 ± 0,12) ед./см^3, для штамма В-3 (2,28 ± 0,04) ед./см^3. Показатели находятся на уровне активности

для изученных культур Aspergillus, не являющихся продуцентами кислот, но растущих при pH 4,5–5,0 [Ottoni et al., 2012, p. 52].

В результате «короткого» цикла ферментации сахарозоминеральной среды с массовой концентрацией сахарозы 70 г/дм^3 штаммом Л-4 в ферментаторе Biostat®Cplus — C20-3MO наибольший уровень активности β-фруктофуранозидазы в нативном растворе зафиксирован на первые сутки процесса и составил (2,47 ± 0,12) ед./см^3. По окончании ферментации (третьи сутки) показатель находился на уровне (0,22 ± 0,02) ед./см^3, что в 3–4 раза выше по сравнению с данными, полученными в конце процесса в условиях шейкера-инкубатора на пятые сутки (от 0,06 до 0,07 ед./см^3). Более интенсивно фермент синтезировался штаммом В-3. Активность β-фруктофуранозидазы в мицелии микромицета зафиксирована уже на первые сутки процесса и была в 1,5–2 раза выше по сравнению со штаммами Л-4 и Л-7 (от 0,32 до 0,34 ед./см^3). Скорость снижения активности фермента на вторые-третьи сутки ферментации в мицелии штаммов, по-видимому, обусловленная его экскрецией, находилась на уровне (0,004–0,006) ед. активности β-фруктофуранозидазы в час в пересчете на 1 г мицелиальной массы. В нативном растворе она составила от 0,03 до 0,12 ед./(см^3·ч). В сложной многокомпонентной системе «субстрат-фермент» в нативном растворе возможно интенсивное протекание биохимических реакций, обусловленных присутствием не только β-фруктофуранозидазы, но и ингибиторов его активности.

В результате ферментации сахарозоминеральной среды с массовой концентрацией сахарозы 150 г/дм^3 штаммом Л-4, используемым в настоящее время в производственных условиях (ООО «ЦИТРОБЕЛ», Белгород), повышенная активность β-фруктофуранозидазы выявлена уже на стадии получения посевного мицелия. Значение показателя находилось в пределах (3,82–3,95) ед./см^3. Исследование динамики активности β-фруктофуранозидазы в процессе культивирования аспергилла показало, что максимум активности фермента приходится на вторые сутки процесса и составляет (3,36 ± 0,01) ед./см^3. По окончании ферментации показатель снизился до (0,32 ± 0,02) ед./см^3.

Выход лимонной кислоты — основного метаболита, синтезируемого использованными в экспериментах штаммами Aspergillus niger, от введенного в цикл количества сахара составил (70–80)%.

Таким образом, штаммы микромицета Aspergillus niger Л-4, Л-7 и В-3 являются потенциальными продуцентами β-фруктофуранозидазы при направленном биосинтезе лимонной кислоты. Получение двух продуктов микробиологического синтеза в одном технологическом процессе с использованием потенциала одного продуцента представляет научный и практический интерес. Современные исследования в области регуляции направленного биосинтеза у микроорганизмов идут быстрыми темпами. Однако многие подробности белкового синтеза, в частности ферментов, большинством прокариот, в том числе и грибами рода Aspergillus, остаются неясными. Поскольку от активности ферментной системы продуцента зависит эффективность биоконверсии субстратов в целевые продукты метаболизма, несомненный интерес вызывает установление путей регуляции биосинтеза ферментов с определенной специфичностью действия. Применительно к биосинтезу лимонной кислоты при использовании в качестве углеводсодержащего субстрата сахарозы таким ферментом является β-фруктофуранозидаза, выполняющая ключевую функцию биокатализатора гидролиза присутствующей в среде сахарозы до фруктозы и глюкозы, непосредственно трансформируемой в целевой метаболит.

Следует отметить, что представленные результаты получены при использовании «экологически безопасного» пищевого сырья. Решение проблемы увеличения

объема производства отечественных пищевых добавок на основе микробных метаболитов, расширения их номенклатуры и снижения импортных поставок за счет рационализации и экологизации микробиологических производств представляется своевременным, актуальным и оригинальным.

Библиографический список

Букова В.Б. Разработка технологии получения β-D-фруктофуранозидазы Aspergillus awamori, штамм чешский : автореф. дис. … канд. техн. наук. М., 1983. 36 с.

Кулёв Д.Х. Техническое регулирование пищевых ингредиентов на едином экономическом пространстве //Контроль качества продукции. 2014. №8. С. 27–35.

Назаренко М.Н. Исследование процесса ферментации инулина при производстве фруктозо-глюкозного сиропа// Научный журнал КубГАУ. 2014. №98 (04). С. 1–13.

Никифорова Т.А., Мушникова Л.Н., Львова Е.Б. Основы микробного синтеза лимонной кислоты. СПб., 2005. 180 с.

Островский Д.И., Рязанов Е.М., Бубнов А.В. Способ получения препарата инвертазы для гидролиза сахарозы. Патент РФ 2157844. Опубл. 20.10.2000 [Электронный ресурс]. URL: http://ru-patent.info/21/55-59/2157844.html.

Ana Luísa Dominguez, Lígia Raquel Rodrigues, Nelson Manuel Lima, José António Teixeira An Overview of the Recent Developments on Fructooligosaccharide. Review. Production and Applications // Food Bioprocess Technol. Madrid, 2013. 16 c.

Flores-Gallegos A.C., Castillo-Reyes F., Lafuente C.B., Loyola-Licea J.C., ReyesValdés M.H., Aguilar C.N., Rodríguez Herrera R. Invertase production by Aspergillus and Penicillium and equencing of an inv gene fragment // Micología Aplicada Internacional. 2012. №1, V. 24. P. 1–10.

Habib Ullah Nadeem Purification, kinetic and thermodynamic characterization of native and chemically modified invertases from Aspergillus niger. Islamabad, 2011. 176 p.

Ottoni C.A., Cuervo-Fernandez R., Piccoli R.M., Moreira R., Guilarte-Maresma B., Sabino da Silva E., Rodrigues M.F.A/, Maiorano A.E. Media optimization for β-fructofuranosidase production by Aspergillus oryzae// Brazilian Journal of Chemical Engineering. 2012. №1, V. 29. P. 49–59.

Rubio M.C., Navarro A.R. Regulation of invertase synthesis in Aspergillus niger// Enzyme and Microbial Technology. 2006. №4, V. 39. P. 601–606.

УДК 664.951

З.П. Швидкая, Т.А. Давлетшина

Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр (Владивосток, Россия)

ГИСТАМИН КАК ПОКАЗАТЕЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ ИЗ САЙРЫ ТИХОКЕАНСКОЙ

Приведены данные по содержанию гистамина в мороженой сайре тихоокеанской, в зависимости от ее размера, температуры и продолжительности хранения. Понижение температуры хранения сайры до минус 30°С способствует торможению процесса образования гистамина: к четырем месяцам хранения крупной сайры его значение составило 48,2 мг/кг, а в мелкой к двум месяцам — 49,4 мг/кг.

Ключевые слова: гистамин, гистидин, сайра тихоокеанская, замораживание, хранение.

Z.P. Shvidkaya, T.A. Davletshina

The PacificFisheries Research Center (Vladivostok, Russia)

HISTAMINE AS AN INDICATOR OF SAFETY PRODUCTS FROM PACIFIC SAURY

Data on the content of histamine in Sayre Pacific depending on its size, body part, temperature and duration of storage, sterilization. It has been shown that lowering the storage

temperature of saury to minus 30 ° C promotes the inhibition of the formation of histamine: a four-month storage of large saury its value was 48.2 mg/kg, and in shallow to two months — 49.4 mg/kg.

Key words: histamine, histidine, Pacific saury, freezing, storage.

Гистамин (β-имидазолэтиламин или 2-аминоэтилимидазол) является одним из биогенных аминов, образующихся в рыбе при декарбоксилировании аминокислот, в том числе и в результате деятельности бактерий, повышенное накопление которого в некоторых продуктах питания при определенных условиях может служить причиной пищевых отравлений.

Необходимо отметить, что содержание гистамина в пище нормируется во всех развитых странах и является важнейшим показателем свежести рыбы. В США и Канаде допускается количество гистамина для необработанной рыбы до 50 мг/кг, что в 2 раза ниже нормы, принятой в России, Австралии и Швеции — до 100 мг/кг. В этой связи актуальна унификация гигиенических нормативов, в том числе по гистамину, на международном уровне.

На количество гистамина влияет множество факторов: вид рыбы; количество гистидина; активность гистаминазы; часть тела рыбы; микробный фактор; стадии посмертных изменений; способ разделки; вид продукции; температура и продолжительность хранения, о чем свидетельствуют последние публикации [Подсосонная и др., 2004, с. 30–32; Овсюк и др., 2010, с. 17–19; Серпунина и др., 2011, с. 191–199].

И.Н. Ким в сводных работах [Ким, 2009, с. 3–29; Ким и др., 2010] приводит перечень рыб по содержанию гистамина в мороженой продукции, включающий порядка 40 наименований. Определено повышенное содержание гистамина для таких рыб, как килька (96,3 мг/кг), ставрида (69,1 мг/кг), тунец (65 мг/кг) и скумбрия (58,4 мг/кг). Для сайры не приведено данных по содержанию гистамина ни в сырье, ни в продукции из нее.

Сайра тихоокеанская (Cololabis saira) относится к семейству Scomberesocidae (макрелещуковые, скумбрещуковые) и является одним из массовых объектов дальневосточного промысла. По содержанию свободного гистидина сайра превышает скумбрию (300–500 и 200–280 мг% соответственно), которая входит в перечень рыб, обязательных для контроля по содержанию гистамина, но сайра в этом списке не значится. Высокое содержание свободного гистидина в мясе сайры говорит о потенциальной опасности образования гистамина в процессе обработки, в том числе в зависимости от стадии посмертного состояния, учитывая высокую активность протеолитических ферментов мышечной ткани и внутренностей сайры [Кержневская, 1981].

Цель работы: проведение исследований по определению содержания гистамина в продукции из сайры тихоокеанской.

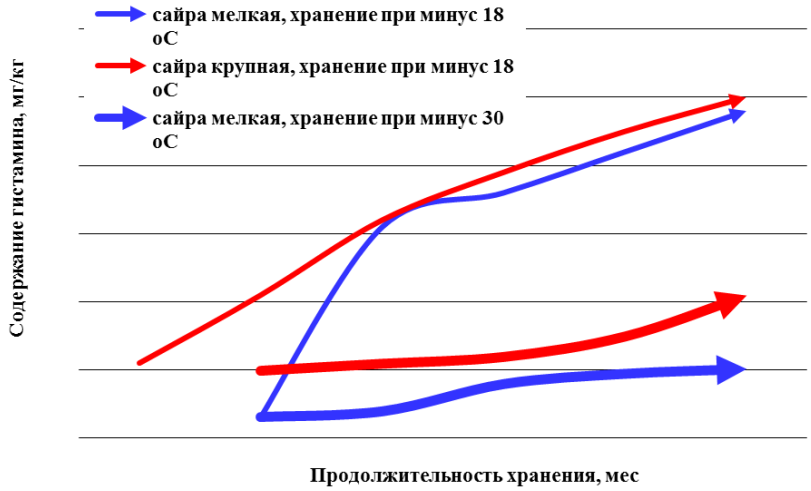
Материал для исследований: сайра тихоокеанская мороженая мелкая (20–24 см) и крупная (25–30 см).

Гистамин определяли колориметрическим методом, основанным на количественном фотометрическом определении величины абсорбции окрашенного продукта при взаимодействии гистамина с диазореактивом на фотоэлектроколориметре КФК-2.

Известно, что химический состав мяса сайры зависит от размера рыбы, периода и, в меньшей степени, района промысла. Наиболее подвержено изменению количество липидов при стабильном содержании белка — в пределах 18%. Между длиной тела и жирностью сайры существует прямая зависимость. При этом наименее упитанными являются неполовозрелые особи размером 19–25 см. Разница в интенсивности липидного обмена сайры разного размера выражается и в максимальных значениях жирности: для рыб крупнее 25 см она составляет 22–26%, тогда как для неполовозрелых особей — не превышает 10%.

Результаты исследований по определению содержания гистамина в мышечной ткани сайры (мелкой и крупной) при разных температурах (минус 18 °С и минус 30 °С) морозильного хранения рыбы приведены на рисунке.

Установлено, что к 6 мес. хранения при температуре минус 18 °С содержание гистамина в мышечной ткани сайры увеличилось, по отношению к исходному (43,2 мг/кг), в два раза (до 85,3 мг/кг), что превысило в 1,7 раза норму его содержания, принятую для стран ЕС (не более 50 мг/кг).



Содержание гистамина в мороженой сайре в зависимости размера, температуры и продолжительности хранения

По содержанию гистамина, принятого для стран ЕС, срок хранения мороженой мелкой сайры тихоокеанской при температуре минус 18 °С составляет 2 мес. Более низкая температура хранения (минус 30 °С) замедляет накопление гистамина в мышечной ткани рыбы. Показано, что к 6 мес. хранения его содержание составило 50,2 мг/кг — это соответствует уровню, принятому для стран ЕС. Следовательно, хранение мелкой сайры при более низкой температуре способствует увеличению сроков ее хранения в 3 раза по показателю безопасности «гистамин».

Понижение температуры хранения крупной сайры до минус 30 °С также способствует торможению процесса накопления гистамина (39,8–49,4 мг/кг) в мышечной ткани рыбы. Это объясняется тем, что при более низких температурах хранения рыбы снижается численность микроорганизмов, ферменты которых при нарушении условий хранения ответственны за процесс декарбоксилирования гистидина, других свободных аминокислот и биогенных аминов (спермина, кадаверина, путресцина и др.). Поэтому замедляется процесс образования гистамина, и к четырем месяцам хранения крупной сайры его значение составило 48,2 мг/кг, а в мелкой к двум месяцам — 49,4 мг/кг, что ниже предельно допустимых уровней по СанПиН 2.3.2. 1078-01 (100 мг/кг) и норм, принятых для стран ЕС (50 мг/кг). К шести месяцам хранения при температуре минус 18 °С этот показатель увеличился до 90,8 мг/кг и значительно превысил содержание гистамина в сайре, которая хранилась при более низкой температуре (65,1 мг/кг).

Таким образом, отмечено значительное различие в образовании гистамина как для мелкой, так и для крупной сайры в зависимости от температуры и продолжительности хранения. Это подтверждает необходимость контроля мороженой сайры по показателю «гистамин» особенно при пролонгировании ее сроков холодильного хранения.

С целью сохранения качества мороженой сайры предложена технология ее глазирования с использованием пищевой добавки, содержащей природный антиоксидант, что позволило обосновать допустимые сроки годности — 12 месяцев при температуре хранения минус 25 °С [ТУ 9261-042-00472124-07 «Сайра мороженая глазированная. Технические условия»].

Показана также возможность использования мороженой сайры, глазированной морской водой и хранившейся не более 8 месяцев, для изготовления консервов «Сайра тихоокеанская натуральная» по ГОСТ 7492 [Митешова, 2008, с. 97].

При этом не приведены данные по содержанию гистамина для рыбы, которая находится в зоне риска по этому показателю.

Установлено, что массовая доля гистамина в консервах «Сайра тихоокеанская натуральная», приготовленных только из рыбы сырца, независимо от периода лова и срока хранения консервов, колеблется в пределах от 11,83 до 17,75 мг/кг.

Исследования, проведенные по определению содержания гистамина в консервах «Сайра тихоокеанская натуральная», приготовленных из мороженого сырья различного срока хранения, свидетельствуют о корреляции между содержанием гистамина, сроком хранения сырья и готовой продукции и в ряде случаев находятся на пределе (99 мг/кг) допустимого количества [Швидкая и др., 2013, с. 257–260].

Таким образом, в результате исследований содержания гистамина в мороженой сайре тихоокеанской, в зависимости от ее размера, температуры и продолжительности хранения установлено, что понижение температуры хранения сайры до минус 30 °С способствует торможению процесса образования гистамина: к четырем месяцам хранения крупной сайры его значение составило 48,2 мг/кг, а в мелкой к двум месяцам — 49,4 мг/кг.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости продолжения исследования сайры тихоокеанской и продукции из нее на наличие гистамина с целью сокращения возможных рисков при ее изготовлении.

Библиографический список

Кержневская М.М. Изыскание способов ингибирования протеолитических ферментов сайры при производстве пресервов : автореф. дис. … канд. техн. наук. М., 1981. 24 с.

Кизеветтер И.В. Биохимия сырья водного происхождения. М., 1973. 385 с.

Ким И.Н. Биогенные амины в продуктах из гидробионтов // ВИНИТИ. Серия : Экологическая экспертиза. 2009. №6. С. 3–29.

Ким И.Н., Кращенко В.В., Кушнирук А.А. Пищевая безопасность морепродуктов : учебное пособие. Владивосток, 2010. 452 с.

Митешова Т.С. Консервы из сайры длительного срока хранения // Пищевая и морская биотехнология. Проблемы и перспективы : тезисы науч.-практ. конф. Светлогорск, 2008. С. 97.

Овсюк Е.А., Колодезная В.С. Влияние условий холодильной обработки и хранения на природные токсиканты морской рыбы // Рыбпром. 2010. №4. С. 17–19.

Подсосонная М.А., Родина Т.Г. Проблема гистамина в рыбной продукции // Известия ВУЗов. Пищевая технология. 2004. №1. С. 30–32.

Серпунина Л.Т., Бречко Е.В. Уровень гистамина в рыбных консервах в зависимости от технологических факторов // Известия КГТУ. 2011. №23. С. 191–199.

ТУ 9261-042-00472124-07 «Сайра мороженая глазированная. Технические условия».

Швидкая З.П., Чернова М.А., Солодова Е.А. О содержании гистамина в продукции из сайры тихоокеанской // Производство рыбных продуктов: проблемы, новые технологии, качество : материалы 9 Междун. научн.-практ. конф. Калининград, 2013. С. 257–260.

УДК 661.722

Г.Ф. Юрина
Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова (Бийск, Россия)
Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

ОБЗОР ИННОВАЦИЙ В ТЕХНОЛОГИИ БИОЭТАНОЛА

Приведены инновационные решения технологических проблем синтеза биоэтанола второго поколения: в результате детально изучения биохимизма синтеза лигнина генно-инженерными методами созданы растения с низким его содержанием; найдены микроорганизмы, обладающие высокой целлюлазной активностью; предложен метод микроволновой предобработки целлюлозосодержащего сырья, позволяющий повысить его реакционную способность к ферментативному гидролизу.

Ключевые слова: биоэтанол, прорывная технология, целлюлозосодержащее сырье, фермент.

G.F. Yurina
Biysk Technological Institute (branch) Altai State Technical University I.I. Polzunov (Biysk, Russia)
Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

REVIEW OF INNOVATIONS IN BIOETHANOL TECHNOLOGY

Innovative solutions to technological problems in second-generation bioethanol synthesis are provided: plants low in lignin have been created as a result of the study into biochemistry of lignin synthesis via genetic engineering techniques; microorganisms exhibiting high cellulase activity have been discovered; a microwave pretreatment method for cellulosic biomass is suggested that allows improving the biomass reactivity to enzymatic hydrolysis.

Key words: Bioethanol, breakthrough technology, cellulosic biomass, enzyme.

Согласно данным статистического отчета энергетической компании British Petroleum подтвержденных нефтяных запасов на планете осталось всего на 40 лет [Никифоров, 2011]. Во многих странах предпринимаются попытки производства из растительного сырья биоэтанола, биобутанола, биодизеля в качестве добавок к углеводородному топливу в различных соотношениях (от 5 до 85%) в целях получения смеси, которую называют биотопливом [Федченко, 2013; Булаткин, 2010, с. 522–526].

Крупные национальные и международные энергетические корпорации стараются не пропустить прорывные технологии, которые могут коренным образом изменить сложившиеся рынки энергии, топлива и химии; вследствие чего эти компании инвестируют в биотопливо [Аблаев, 2011, с. 16–20; Корнюшин, 2011].

Приоритетным биотопливом является биоэтанол, для производства биоэтанола второго поколения наиболее перспективно быстровозобновляемое целлюлозосодержащее сырье (солома, трава и опилки). Производство биоэтанола из такого сырья не ставит под угрозу пищевой баланс. Учитывая постоянный избыток целлюлозы, полученный этанол вполне может обеспечивать энергию для мотора так же эффективно, как и бензин [ГОСТ Р 52808-2007; Аблаев, 2008, с. 24–28].

Однако процессы, участвующие в преобразовании целлюлозы и гемицеллюлоз, которые создают объем биомассового сырья, тесно связывают со словом «неподатливость», чтобы акцентировать преграды, которые затрудняют преобразование. Неподатливость при конверсии исходит из ключевого слова «экономный», так как каждый этап в преобразовании может быть дорогостоящим и сделать производ-

ственные затраты выше, чем его конкурирующие транспортные горючие, такие как из ископаемых топлив (бензин, дизель, природный газ) или крахмала и растительных масел (биоэтанол первого поколения и биодизель). Объединенная прочность гликозидных связей целлюлозы и ее молекулярная кристаллическая структура диктует использование или жестких физико-химических условий, или нескольких определенных ферментов. По сравнению с производством биоэтанола первого поколения (из кукурузного крахмала и сахарного тростника) жесткие физико-химические условия вносят существенные расходы на создание реакторов осахаривания и последовательную переработку.

Преобразование клеточных стенок в биоэтанол проходит в три рабочих этапа.

Первое — это производство биомассы и предобработка. Сырье биомассы будет зависеть от локальной доступности, определяющей, что будет собираться: излишки соломы злаковых или специализированная энергетическая культура (просо, мискантус). Предобработка включает механические, тепловые и химические условия, цель которых максимизировать воздействие на химические связи биомассы гликозидными гидролазами или эстеразами, которые опосредуют их гидролиз. Без предобработки выход моносахаридов из нативной биомассы, гидролизованной целлюлазами, ксиланазами и соответствующими ферментами, составляет только порядка 20%. Эффективная предобработка повысит выход свыше 80%.

Второе — это ферментативное осахаривание. На этом этапе требуется несколько ферментов для выделения главных сбраживаемых моносахаридов. Необходимые ферменты должны показывать превосходную кинетику гидролиза на натуральных субстратах и хорошие свойства стабильности.

Третье — ферментация. Необходимо, чтобы этот этап был надежным и способным обеспечить быстрое и эффективное сбраживание всех имеющихся сахаров [Jordan, 2012, p. 241–252].

В целях интенсификации биоконверсии целлюлозосодержащего сырья в биоэтанол ведется множество исследований. Международная группа исследователей из британского Университета Данди и из Фламандского института биотехнологии в Бельгии сообщила о том, что при анализе коэкспрессии генов, вовлеченных в биосинтез лигнина, учеными был обнаружен ранее неизвестный компонент этого биохимического пути — эстераза, расщепляющая эфир кофеиновой и шикимовой кислот (caffeoyl-shikimate esterase, CSE). Лигнин вместе с такими полисахаридами, как целлюлоза и гемицеллюлоза, является основой клеточной стенки растений. Для получения биотоплива из растений необходимо преобразование целлюлозы в глюкозу, однако этому процессу в значительной степени препятствует лигнин. Он связывает целлюлозу, образуя комплексы. Использование сырья с низким содержанием лигнина могло бы значительно упростить и удешевить переработку целлюлозы в биотопливо. Модельное растение *Arabidopsis thaliana* с мутантными вариантами фермента CSE содержало меньше лигнина, чем растение дикого типа; кроме того, лигнин в мутантных растениях претерпел структурные изменения. В результате отключения гена CSE эффективность преобразования целлюлозы из предварительно обработанной растительной биомассы в глюкозу увеличилась в четыре раза: с 18% у контрольных до 78% у CSE-мутантных растений [Аствацатурян, 2013, с. 3].

Еще одно интересное исследование показало, что в кишечнике панд находятся микробы, пригодные для использования в производстве биотоплива. В конце 2013 г. на 246-й Национальной конференции и выставке Американского химического общества сотрудники Университета Миссисипи представили результаты исследования фекалий больших панд — обитателей зоопарка Мемфиса. Ученые установили, что в их кишечнике обитают 40 видов микробов, благодаря которым производство биотоплива из растительных отходов может стать проще и дешевле. Руководитель

исследования Эшли Браун напомнил в своем докладе о том, что различные стебли и кочерыжки, не пригодные в пищу, являются лучшим сырьем для производства биогорючего, чем зерно. Однако этот материал требует специальной переработки для расщепления лигноцеллюлозы. Эффективно с таким материалом справляются некоторые бактерии, в частности, те, что населяют кишечник питающихся твердыми бамбуковыми побегами панд. Эти бактерии справляются не только с относительно мягкой целлюлозой, но и с лигнином — самым твердым компонентом древесины. По оценкам ученых, эти микроорганизмы способны переработать до 95% растительной биомассы в сахар и другие относительно простые органические молекулы. Повышенная эффективность ферментов, выделенных из микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт панд, связана с тем, что пищеварительный тракт у панд короткий. Эффективность целлюлозорасщепляющих ферментов — ключевой фактор в производстве биотоплива. Ученые планируют выделить самую активную бактерию из тех, что живут в кишечнике панд, и «пересадить» ее гены, отвечающие за разложение целлюлозы и лигнина, в обычные хлебопекарные дрожжи. Дрожжи будут вырабатывать вещество, разлагающее биомассу, что позволит запасать его в количествах, достаточных для производства топлива [Аствацатурян, 2013, с. 4].

Британские ученые разработали новый метод микроволновой обработки биологических отходов с целью получения ценных химических веществ и биотоплива. Пищевая промышленность и сельское хозяйство производят в глобальном масштабе миллионы тонн органических отходов. Например, при выращивании тропического плода кассавы или маниоки в Африке ежегодно остаются неиспользованными 228 млн тонн крахмала, а шелуха от кофейных зерен, выращиваемых в Эфиопии, составляет отходы в 3 млн тонн в год. При производстве апельсинового сока в Бразилии используется половина плодов, а остальное уходит в отбросы. Только кожура от апельсинов дает 8 млн тонн отходов в год.

Проект OPEC (Orange Peel Exploitation Company — компания по использованию апельсиновой кожуры) ставит целью применение технологии, разработанной учеными Йоркского университета, для получения биотоплива и ценных химических веществ из кожуры бразильских апельсинов. Кожура измельчается, помещается в микроволновое поле, под действием которого происходит разрушение целлюлозы, при этом высвобождается множество химических веществ. Одно из них, лимонин, является ценным сырьем в парфюмерной промышленности. Побочные продукты такой микроволновой обработки могут использоваться в производстве технических спиртов. Особенно эффективным этот метод оказался при обработке отходов целлюлозно-бумажной промышленности, смешанных с бытовыми отбросами. По оценке ученых, установка для переработки отходов сможет перерабатывать около шести тонн отходов в час, кроме того, разрабатываются портативные устройства [Никифоров, 2011].

В России нет действующего производства биоэтанола из недревесного целлюлозосодержащего сырья, но в ИПХЭТ СО РАН получены первые успешные результаты по разработке способа синтеза биоэтанола из российского мискантуса и плодовых оболочек овса по полному циклу: сырье → химическая предобработка → субстрат → ферментативный гидролиз → спиртовое брожение → выделение биоэтанола из бражки [Baibakova, 2015, p. 69–74].

Библиографический список

Аблаев А.Р. Биотопливо: мыслить за пределами нефтяной трубы // Масложировая промышленность. 2007. №5. С. 9–11.

Аблаев А. Majors и биотопливо // Нефтегазовая вертикаль. 2011. №22 (273). С. 16–20.

Аствацатурян М.З. Новости биотехнологии // Биотехнология. 2013. №5. С. 3.

Аствацатурян М.З. Новости биотехнологии // Биотехнология. 2013. №6. С. 4.

Булаткин Г.А. Производство топлива второго поколения из растительного сырья // Вестник Российской академии наук. 2010. Т. 80, №5. С. 522–526.

ГОСТ Р 52808-2007. Нетрадиционные технологии. Энергетика биоотходов. Термины и определения. М., 2008. 15 с.

Корнюшин В. Инвестиции в биотопливо. Вкладываем деньги в спирт? // Первый доверительный управляющий. 2005–2014 [Электронный ресурс]. URL: http://vip.1-du.ru/news/350071.

Никифоров О. Королева новой колонки // Новые химические технологии. 2011 [Электронный ресурс]. URL: http://www.newchemistry.ru/letter.php?n_id=422

Топливо будущего будут получать из микроволновых печей // Экология производства: научно-практический портал. 2005–2014 [Электронный ресурс]. URL: http://www.ecoindustry.ru/news/view/29715.html.

Федченко И.А., Соловцова А.С., Лукьянов А.Н. Основные тенденции развития рынка биотоплива в мире и России за период 2000–2012 годов. Аналитический отчет / Информационно-аналитическая служба ОАО «Корпорация «Развитие». 2013 [Электронный ресурс]. URL: http://portal-energo.ru.

Baibakova O.V., Skiba E.A. Biotechnological Aspects of Ethanol Biosynthesis from *Miscanthus* // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2015. №1, V. 5. P. 69–74.

Jordan D.B., Bowman M.J., Braker J.D., Dien B.S., Hector R.E, Lee C.C., Mertens J.A., Wagschal K. // Biochemical Journal. 2012. №442. P. 241–252.

УДК 637.352

А.И. Яшкин[1], Л.Н. Азолкина[2]

[1] Алтайский государственный аграрный университет (Барнаул, Россия)

[2] Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОТНО-СЫЧУЖНЫХ СГУСТКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЛЮКОНО-ДЕЛЬТА-ЛАКТОНА

Изучены особенности получения и свойства молочных сгустков с глюконо-дельта-лактоном. Установлено, что прямое подкисление молока глюконо-дельта-лактоном инициирует рост активной кислотности и сокращает продолжительность свертывания молока. Скорость образования сгустка пропорциональна дозировке ГДЛ и величине pH молока. Показано, что прочность получаемых кислотно-сычужных сгустков возрастает пропорционально дозе внесения ГДЛ в молоко.

Ключевые слова: молоко, коагуляция, кислотно-сычужный сгусток, глюконо-дельта-лактон, глюконовая кислота, активная кислотность, прочность сгустка.

A.I. Yashkin [1], L.N. Azolkina [2]

[1]Altai State Agrarian University (Barnaul, Russia)

[2]Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

THE STUDY OF ACID-RENNET CURDS OBTAINED USING GLUCONO-DELTA-LACTONE

The paper studied the peculiarities of obtain and characteristics of milk curds with glucono-delta-lactone. It is found that the direct acidification of milk by glucono-delta-lactone initiates growth acidity and shortens the clotting milk. The rate of curds formation is proportional to the dosage of the GDL and the pH value of milk. It is shown that the strength of the acid-rennet curds increases proportionally with dose in the milk entering GDL.

Key words: milk, coagulation, acid-rennet clot, glucono-delta-lactone, gluconic acid, active acidity, strength of the clot

Введение. Одним из перспективных направлений развития сыродельной отрасли России, по мнению академика Ю.Я. Свириденко, является увеличение производства мягких сыров. Это сыры без созревания либо с коротким сроком созревания, обеспечивающие быстрый оборот денежных средств [Свириденко, 2013, с. 10–13]. Темпы роста производства мягких сыров в нашей стране свидетельствуют о популярности продукции у потребителей: за 2010–2013 гг. прирост объемов мягких сыров составил 13%, в то время как спрос на традиционные для российского рынка твердые, полутвердые и плавленые сыры снижается [Горощенко, 2014, с. 4–6].

В технологии отдельных видов мягких сыров особое внимание уделяется прямому подкислению молока с использованием лимонной, уксусной, молочной и другие пищевые кислоты [Serpelloni, 1990, с. 35]. Однако прямое подкисление зачастую приводит к быстрому локальному падению уровня pH молочной смеси, которое вызывает частичное осаждение белков молока и получение хлопьевидного сгустка. Постепенное нарастание кислотности молока без локальной коагуляции белков с образованием однородного сгустка возможности при использовании в качестве подкисляющего агента глюконо-дельта-лактона (далее — ГДЛ) [Мазалевский, 2012, с. 100–111].

ГДЛ представляет собой кристаллический порошок белого цвета, не имеющий вкуса и запаха, хорошо растворимый в воде и плохо растворимый в спиртах. Кислотонакопление в молоке и молочных продукта под действием ГДЛ основано на постепенном контролируемом гидролизе последнего до глюконовой кислоты [Майоров, 2012, с. 27–31].

В доступной научно-технической литературе недостаточно подробно рассмотрен этап прямого подкисления молока глюконо-дельта-лактоном применительно к производству мягких кислотно-сычужных сыров. Данное обстоятельством определило необходимость проведения научно-исследовательской работы, цель которой заключалась в изучении динамики кислотно-сычужного свертывания молока с применением ГДЛ и исследование получаемых сгустков.

Организация и методы исследований. Выбор технологических параметров подготовки и свертывания молока, а также диапазон и дискретность применения коагулянтов при проведении исследований был основан на данных доступной научно-технической литературы с учетом специфики применения глюконо-дельта-лактона для этих целей.

Порядок проведения работы был следующим. Прямое подкисление пастеризованного и охлажденного до температуры свертывания молока осуществлялось глюконо-дельта-лактоном в пяти вариантах дозами 0,2; 0,4; 0,6 и 0,8% от массы молока. В целях свертывания сычужный препарат вносили из расчета 0,8 г на100 кг молока. Подкисление и свертывание проводили при температуре молока (37 ± 1) °С. После внесения коагулянтов в образцах молока исследовали динамику свертывания; окончанием свертывания считалось достижение стадии массовой (явной) коагуляции белков молока.

В работе использованы стандартные и оригинальные методы исследований: отбор и подготовку проб молока проводили по ГОСТ 26809-86, активную кислотность молока и молочных сгустков определяли в соответствие с ГОСТ Р 53359-2009. Исследование динамики свертывания молока проводили при сравнении вязкости молока и получаемого молочного сгустка без нарушения его целостности. Определение предела прочности молочных сгустков проводили с использованием модернизированного измерителя вязкости Гепплера. Обе оригинальные методики разработаны директором Сибирского НИИ сыроделия профессором А.А. Майоровым.

Результаты исследований. Результаты проведенных исследований показали, что внесение в молоко ГДЛ в дозах от 0,2 до 0,8% в сочетании с ферментным пре-

паратом оказывает влияние на скорость образования сгустков. Максимальная продолжительность гелеобразования (35 мин) зафиксирована в варианте с использованием 0,2% ГДЛ. Двукратное повышение дозы ввода ГДЛ до 0,4% ускоряет свертывание молока на 23%, как и в варианте с 0,6% ГДЛ, где оно происходит в 2,2 раза быстрее по сравнению с первым вариантом. Наименьшей продолжительностью свертывания характеризуется молоко с 0,8% ГДЛ, где время получения сгустка сокращается в 2,4 раза до 15 мин. Дальнейшее увеличение дозы ГДЛ свыше 0,8% не приводит к ощутимому ускорению свертывания молока, что позволяет выдвинуть предположение о взаимосвязи между скоростью гидролиза ГДЛ и уровнем активной кислотности молока.

Динамика активной кислотности исследуемого молока показана на рисунке 1.

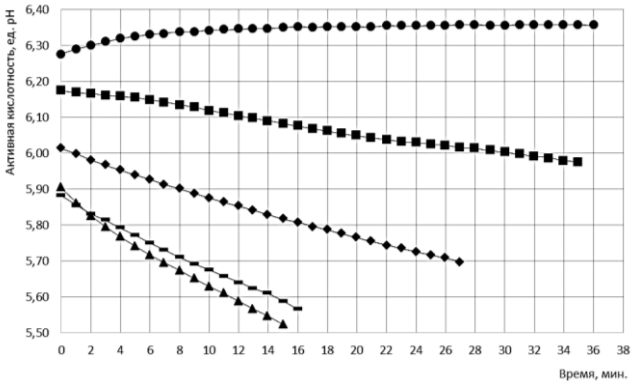


Рис. 1. Динамика активной кислотности молока с ГДЛ:
контроль (●); 0,2% ГДЛ (■); 0,4% ГДЛ (♦); 0,6% ГДЛ (—); 0,8% ГДЛ (▲)

Данные рисунка 1 свидетельствуют о том, что интенсивность снижения pH при постоянной температуре напрямую определяется количеством вносимой кислотообразующей добавки. Так, при добавлении в молоко подкислителя в количестве 0,2% pH изменяется с 6,17 до 5,98 к моменту образования сгустка. Аналогичная тенденция прослеживается и с увеличением дозы ГДЛ до 0,4%, однако кислотность молока нарастает более стремительно, достигая pH 5,70 в образованном сгустке. Указанная закономерность находит свое объяснение в повышении молокосвертывающей активности сычужного фермента и в последующем быстром достижении pH молока изоэлектрической точки пара-к-казеина при ускоренном накоплении глюконовой кислоты в молоке.

При внесении глюконо-дельта-лактона в молоко в дозах 0,6 и 0,8% существенных различий в динамике pH между ними отмечено не было. Причиной этого, повидимому, является заметное снижение pH в молоке вследствие накопления глюконовой кислоты, замедляющее скорость последующего кислотообразования с течением времени.

Скорость изменения pH в молоке в ходе свертывания была различной. При сравнении кривых роста/снижения показателя pH отмечено, что наиболее интенсивное изменение кислотности наблюдается в ходе первых 10 мин свертывания. В последующий период скорость изменения кислотности в молоке снижается, что выражается в медленном нарастании кислотности и закономерном увеличении продолжительности гелеобразования.

В работе проведены исследования предельного усилия продавливания (предела прочности) индентором молочных сгустков. Установлено, что величина нагрузки на индентор, превышающая предел прочности сгустка, нарастает по мере повышения дозы ввода ГДЛ в молочную смесь (рис. 2).

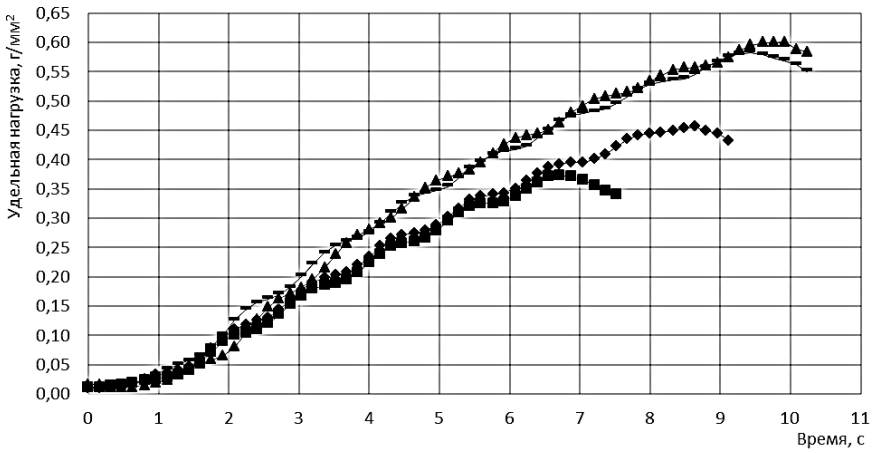


Рис. 2. Предел прочности сгустков, полученных подкислением молока ГДЛ: 0,2% ГДЛ (■); 0,4% ГДЛ (♦); 0,6% ГДЛ (─); 0,8% ГДЛ (▲)

По данным рисунка 2, наименьшее значение по показателю прочности отмечено в отношении сгустка, полученного подкислением ГДЛ в дозе 0,2%, — 0,374 г/мм², что на 21,7…55,8% уступает аналогичному показателю сгустков с внесением подкислителя в количестве от 0,4 до 0,8%. Увеличение дозировки ГДЛ при внесении в молоко с 0,6 до 0,8%, по данным, полученным в ходе опыта, не приводит к соразмерному росту нагрузки на индентор при продавливании сгустка. В целом полученные результаты находят объяснение в повышении вязкости молочных гелей, вызванном ростом активной кислотности среды.

Заключение. Итоги проведенной работы позволяют заключить, что прямое подкисление молока глюконо-дельта-лактоном и гидролиз последнего в глюконовую кислоту инициирует рост активной кислотности и сокращает продолжительность свертывания молока; при этом темп кислотонакопления и скорость образования сгустка пропорциональны дозировке ГДЛ и величине pH молока, а его максимальный уровень отмечается в первые минуты после внесения коагулянтов. Установлено, что прочность получаемых кислотно-сычужных сгустков возрастает пропорционально дозе внесения ГДЛ в молоко.

Результаты исследований позволяют применять полученные закономерности при разработке технологий мягких сыров с кислотно-сычужным типом свертывания молока с использованием глюконо-дельта-лактона в роли основного кислотообразующего агента.

Библиографический список

Горощенко Л.Г. Российское производство сыров и творога // Сыроделие и маслоделие. 2014. №4. С. 4–6.

Мазалевский В.Б., Мироненко И.М. Исследование термокислотных сгустков из восстановленного цельного молока // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока. Барнаул, 2012. С. 100–111.

Майоров А.А., Мироненко И.М., Яшкин А.И. Исследование возможности использования глюконо-дельта-лактона в технологии мягкого сыра из восстановленного цельного молока // Техника и технология пищевых производств. 2012. №4 (27). С. 27–31.

Свириденко Ю.Я., Мордвинова В.А., Делицкая И.Н. И снова об ассортименте сыров, или новые разработки ВНИИМС // Сыроделие и маслоделие. 2014. №1. С. 10–13.

Serpelloni M., Lefevre P., Dusautois C. Glucono-delta-lactone in milk ripening // Dairy Industries International. 1990. Vol. 55 (2). P. 35, 37, 39.

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ, ЛЕСНАЯ И ПРИРОДООХРАННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

BIOasia Altai'2015

МЕЖДУНАРОДНЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СИМПОЗИУМ

УДК 579.64

Е.Е. Акимова[1-2], О.М. Минаева[1-2], П.А. Блинова[1], М.В. Апенышева[2], Т.И. Зюбанова[2], В.В. Зюбина[2]
[1]Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа (Томск, Россия)
[2]Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск, Россия)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ В СОСТАВЕ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Проведена оценка эффективности использования бентонитовой глины и торфа в составе бактериальных препаратов для защиты растений от фитопатогенов и стимуляторов роста сельскохозяйственных культур. Обнаружено, что при хранении бактерий *Pseudomonas* sp. при низких положительных температурах использование бентонитовой глины и торфа уменьшает потерю биологической активности бактериальной культуры и способствует сохранению бактериальной численности.

Ключевые слова: биопрепарат, *Pseudomonas*, бентонитовые глины, торф, хранение бактериальных культур.

E.E. Akimova[1-2], O.M. Minaeva[1-2], P.A. Blinova[1-2], M.V. Apenischeva[2], T.I. Zyubanova[2], V.V. Zyubina[2]
[1]Siberian Research Institute of Agriculture and Peat (Tomsk, Russia)
[2]Tomsk State University (Tomsk, Russia)

USING NATURAL SUBSTANCES IN PLANT PROTECTION BIOPREPARATIONS

We have estimated the efficiency of using bentonite clay and peat in the composition of bacterial preparations for protecting plants from phytopathogens and crop growth promoters. We have established that, when keeping *Pseudomonas* sp. at low positive temperatures, applying bentonite clay and peat decreases the loss of biological activity by bacterial culture and contributes to preserving bacterial abundance.

Key words: biopreparation, *Pseudomonas,* bentonite clay, peat, storing bacterial cultures.

В настоящее время широкое применение химических соединений в сельском хозяйстве ведет к проблемам планетарного масштаба: их неблагоприятное влияние на окружающую природную среду может быть самое различное, включая загрязнение почв, поверхностных и грунтовых вод; снижение качества получаемой продукции и другое; большинство из представленных химических пестицидов представляют опасность для теплокровных животных и здоровья человека [Максимов и др., 2001, с. 374; Соколов, 1990, с. 124; Тихонович и др., 2011, с. 3; Штерншис, 2012, с. 92]. В современных условиях повышения урожайности сельскохозяйственных растений можно достичь высокой культурой земледелия путем научно обоснованного экологически безопасного применения удобрений и пестицидов, широкого внедрения прогрессивных технологий с минимальным использованием средств химизации. Поэтому одним из основных направлений в защите растений является разработка и применение биологических препаратов [Максимов и др., 2001, с. 374; Соколов 1990, с. 124; Тихонович и др., 2011, с. 3; Штерншис, 2012, с. 94–96; Minaeva et al., 2013, p. 19–20].

Несмотря на видимое преимущество в использовании экологически безопасных биопрепаратов, их широкое использование сдерживается рядом сложностей, связанных с недостаточной изученностью механизмов взаимоотношений растений и ризобактерий, фитопатогенов и бактерий-антагонистов, а также быстрой потерей биопрепаратами своей эффективности, в том числе из-за хранения в жидкой культуре (основная препаративная форма). Таким образом, актуален поиск компонен-

тов биопрепаратов, способствующих сохранению численности клеток и биологической активности при их длительном хранении. Известно, что доступными и эффективными компонентами биопрепаратов могут выступать природные глины и торф [Меркушева и др., 2004, с. 1; Лактионов и др., 2011, с. 116].

Цель данной работы — оценка эффективности использования бентонитовой глины и торфа в составе бактериальных препаратов для защиты растений от фитопатогенов и стимуляторов роста сельскохозяйственных культур.

Для изучения влияния бентонитовой глины и торфа на численность бактерий при хранении проведены эксперименты, в ходе которых предварительно выращенная культура бактерий помещалась в пробирки с растворами бентонитовой глины и торфа и хранились при низких положительных температурах (+2…4 °С). В качестве активного начала биопрепарата использованы бактерии *Pseudomonas* sp., полученные из вермикомпоста и показавшие стабильную биологическую активность [Терещенко и др., 2013, с. 12–17].

В экспериментах с бентонитовой глиной на хранение заложены следующие варианты: жидкая культура бактерий, культура бактерий со стерильной и нестерильной глиной. Через 6 суток и через 6 месяцев методом предельных разведений сделан высев бактериальной культуры на плотную питательную среду (мясопептонный агар) (табл. 1), проведена оценка биологической активности препаратов.

Таблица 1

Численность бактерий *Pseudomonas* sp. и посторонней микрофлоры при хранении в эксперименте с использованием бентонитовых глин в качестве компонента биопрепарата

Вариант эксперимента	Время хранения			
	6 сут.		6 мес.	
	Численность *Pseudomonas* sp., КОЕ/мл	Численность контаминантов, КОЕ/мл	Численность *Pseudomonas* sp., КОЕ/мл	Численность контаминантов, КОЕ/мл
Жидкая культура	$1{,}9\times10^{10}\pm3{,}4\times10^{9}$	0	$2{,}3\times10^{7}\pm5{,}2\times10^{6}$	0
Раствор глины (стерил.)	$8{,}7\times10^{10}\pm5{,}6\times10^{9}$	0	$3{,}1\times10^{8}\pm1{,}8\times10^{7}$	$4{,}1\times10^{7}\pm1{,}6\times10^{6}$
Раствор глины (нестерил.)	$8{,}9\times10^{10}\pm5{,}7\times10^{9}$	$1{,}8\times10^{10}\pm3{,}4\times10^{9}$	$4{,}3\times10^{7}\pm1{,}1\times10^{6}$	$3{,}1\times10^{8}\pm1{,}3\times10^{7}$

При хранении жидкой бактериальной культуры титр находился на уровне $2{,}9\times10^{7}$ КОЕ/мл, при этом посторонней микрофлоры не обнаружено (табл. 1). Наибольший титр отмечен в варианте со стерилизованным глинистым раствором, однако обнаружено наличие посторонней микрофлоры. В варианте с нестерилизованным глинистым раствором бактерии *Pseudomonas* sp. через 6 месяцев хранения начинают вытесняться контаминантами.

Растворы бентонитовых глин широко известны своими адсорбирующими способностями: глинистые полимерных системы способны адсорбировать не только нерастворимые частицы, удерживая их в растворах в подвешенном состоянии, но и газы, включая кислород. Таким образом, сохранение высокой численности при хранении бактериальной культуры на бентоните, по сравнению с хранением в жидкой форме, по всей видимости, связано с большей доступностью этого необходимого для жизнедеятельности клеток элемента.

Анализ влияния бентонитовой глины на рост и развитие пшеницы в модельных экспериментах показал, что использование глины увеличивает длину пророст-

ков пшеницы (на 35–38%), биомассу растений (на 31–34%) и суммарную длину корневой системы растений (на 37%). Результаты экспериментов по оценке эффективности бактериальных препаратов при хранении в жидкой форме и на бентоните показали, что биологическая эффективность использования биопрепарата без носителя через шесть месяцев хранения снижается на 15–25% по отношению к первоначальной, а при хранении бактерий в глинистом растворе эффективность биопрепарата практически не изменяется и остается на уровне 15–20% по отношению к варианту с внесением чистого глинистого раствора без бактериальной интродукции. При этом эффективность применения биопрепарата с бентонитом после 6 месяцев хранения на 40–43% превышает эффективность использования с чистой культуры бактерии, хранившейся в тех же условиях.

Оценка эффективности использования торфа в качестве компонента биопрепарата на бактериальной основе проведена аналогичным образом. Полученные экспериментальные данные (табл. 2) демонстрируют, что используемая процедура стерилизации на начальных этапах обеспечивает чистоту носителя, однако при его хранении не способна поддерживать полное отсутствие бактериальной обсемененности. Использование торфа в качестве носителя увеличивает сохранность бактериальной культуры, продляя срок хранения бактериального препарата. Так, на 22-е сутки жидкий препарат утратил свои товарные качества, поскольку численность агенты защиты растений упала до численности, обычно используемой в рабочем растворе, сделав тем самым препарат пригодным к эксплуатации только без разведения. В варианте с использование торфа в качестве носителя численность агента остается на уровне 10^9 КОЕ/г носителя, оставляя возможность стандартного приготовления рабочей суспензии (разведения в 1000 раз). На 52-е сутки эксперимента численность агента защиты во всех экспериментальных вариантах уменьшается, при этом в варианте с носителем она остается на более высоком уровне — 10^7 КОЕ/мл, сохраняя возможность использования препарата с приготовлением рабочей суспензии с разведением в 10 раз, в варианте с хранением чистой бактериальной культуры бактериальная численность остается на прежнем уровне.

Таблица 2

Численность бактерий *Pseudomonas* sp. и посторонней микрофлоры при хранении в эксперименте с использованием торфа в качестве компонента биопрепарата

Вариант эксперимента	Время, сут.		
	0	22	56
Контроль (торф)	0	$2*10^5$ КОЕ/г	$1,7*10^5$ КОЕ/г
Жидкая бактериальная культура	$4,4*10^9$ КОЕ/мл	$2,2*10^6$ КОЕ/мл	$2,7*10^6$ КОЕ/мл
Культура бактерий на торфе	$1,2*10^9$ КОЕ/г	$1,1*10^9$ КОЕ/г	$1,8*10^7$ КОЕ/г

При анализе эффективности использования биопрепарата в жидкой форме и с торфом при хранении отмечено, что используемый в экспериментах в качестве носителя торф обладает значительной антифунгальной активностью (около 20–40%) в зависимости от сроков хранения, а эффективность бактерий, заложенных на хранение без носителя, уменьшается на 22-е сутки (до 7%), затем увеличивается и к 56-м суткам составляет 24%. В варианте с использованием торфа в качестве носителя бактериальной культуры наблюдается синергический эффект на протяжении всего эксперимента. Наибольшей эффективностью обладает препарат в начале

эксперимента (эффективность — 68%), при хранении она несколько уменьшается и на момент окончания эксперимента составляет 40%, при этом она превышает эффективность использования жидкой бактериальной культуры, хранящейся при тех же условиях, на 15%.

Таким образом, полученные экспериментальные данные показывают возможность использования мелкодисперсных систем бентонитов и торфов в составе биопрепаратов. Данные компоненты будут способствовать как сохранению численности агентов биоконтроля и стимуляторов роста, так и их биологическую активность на протяжении длительного хранения.

Библиографический список

Лактионов Ю.В., Попова Т.А., Андреев О.А., Ибатуллина Р.П., Кожемяков А.П. Создание стабильной формы ростстимулирующих микробиологических препаратов и их эффективность // Сельскохозяйственная биология. 2011. №3. С. 116–118.

Максимов И.В., Абизгильдина Р.Р., Пусенкова Л.И. Стимулирующие рост растений микроорганизмы как альтернатива химическим средствам защиты от патогенов (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2011. №4, Т. 47. С. 373–385.

Меркушева М.Г., Инешина Е.Г., Цыренов В.Ж., Болонева Л.Н., Мангатаев Ц.Д., Убугунов Л.Л. Способ биологической активации природных цеолитов. Патент на изобретение RUS 2255926 01.04.2004.

Соколов М.С. Состояние, проблемы и перспективы применения экологически безопасных пестицидов в растениеводстве // Агрохимия. 1990. №10. С. 124–145.

Терещенко Н.Н., Кравец А.В., Акимова Е.Е., Минаева О.М., Зотикова А.П. Эффективность применения микроорганизмов, изолированных из копролитов дождевых червей, для увеличения урожайности зерновых культур // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2013. №5. С. 10–17.

Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты // Сельскохозяйственная биология. 2011. №3. С. 3–9.

7. Штерншис М.В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестник Томс. гос. ун-та. Серия : Биология. 2012. №2 (18). С. 92–100.

8. Minaeva O.M., Akimova E.E. Effectiveness of applying bacteria *Pseudomonas* sp., strain B-6798, for anti-phytopathogenic protection of crops in Western Siberia // Вестник Томс. гос. ун-та. Серия : Биология. 2013. №3 (23). С. 19–37.

УДК 575:581.143

З.М. Алиева

Дагестанский государственный университет (Махачкала, Россия)

КУЛЬТУРА *IN VITRO* КАК МЕТОД ОЦЕНКИ УСТОЙЧИВОСТИ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ К ЗАСОЛЕНИЮ

Проведен сравнительный анализ реакции на засоление среды у эксплантов разных органов, различающихся по солеустойчивости культурных растений: *Phaseolus vulgaris*, *Lycopersicum esculentum*, *Solanum melongena*, *Cucumis sativus*, *Beta vulgaris*, *Helianthus annuus*. Наибольшую чувствительность к засолению проявили экспланты более чувствительных культур — фасоли и огурца, меньшую — более солеустойчивых свеклы и подсолнечника. Отмечена органоспецифичность реакции на действие NaCl.

Ключевые слова: засоление, солеустойчивость, культура *in vitro*, культурные растения, экспланты, биотехнология растений.

Z.M. Alieva
Dagestan State University (Makhachkala, Russia)

IN VITRO CULTURE AS A METHOD OF EVALUATION OF THE TOLERANCE OF CROPS TO SALINITY

A comparative analysis of the reaction on medium salinity of explants of differing in salt tolerance crop plants: *Phaseolus vulgaris, Lycopersicum esculentum, Solanum melongena, Cucumis sativus, Beta vulgaris, Helianthus annuus* were studied. The most sensitive to salinity explants showed more sensitive crops — beans and cucumber, smaller — more salt-tolerant beet and sunflower. Effect on organ specificity of the reaction NaCl was marked.

***Key words**:* salinity, salt tolerance, culture in vitro, cultivated plants, explants, plant biotechnology.

Биотехнологические методы оценки стрессоустойчивости растений, основанные на культивировании *in vitro* изолированных органов и тканей, привлекают все большее внимание исследователей. Дополняя классические методы диагностики, биотехнологические методы позволяют проводить быструю экспресс-диагностику растений, в том числе и на начальных этапах онтогенеза. При этом существуют сведения как о прямой корреляции между устойчивостью к разным стрессовым факторам растений и отдельных органов в изолированной культуре, так и об отсутствии такой связи [Керимов и др., 1993; Song et al., 2012]. Оценка особенностей морфогенеза и накопления биомассы тканей *in vitro* при действии стрессоров может выступать как один из подходов диагностики стресс-устойчивости и продуктивности растений в экстремальных условиях [Терлецкая, 2012]. В то же время реакция растений на засоление органоспецифична [Лукаткин, Гераськина, 2003]. Так, у перца каллусные культуры листового происхождения были более устойчивы к засолению, чем семядольного [Elwan, 2012]. В связи с этим нами проведен сравнительный анализ реакции на засоление среды у эксплантов разных тканей и органов, различающихся по солеустойчивости культурных растений.

Объектами исследования служили растения фасоли *Phaseolus vulgaris* L. (сорт Сакса), томата *Lycopersicum esculentum* Mill.(с. Факел), баклажана *Solanum melongena* L. (с. Алмаз), огурца *Cucumis sativus* L. (с. Феникс), свеклы *Beta vulgaris* L. (с. Бордо 437), подсолнечника *Helianthus annuus L.* (с. ВНИИМК 8883). Ряд опытов проводили в условиях *in vitro* по общепринятой методике. Экспланты семядолей и гипокотилей после стерилизации сулемой ($HgCl_2$) и последующего трехкратного промывания дистиллированной водой культивировали на среде Мурасиге — Скуга (МС) с добавлением 0.5 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК) и 2,5 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП). Солевой стресс создавали введением в среду NaCl (0,5 и 1%). Оценку состояния изолированных органов проводили по показателям выживания и каллусообразования (выраженных в процентах от общего числа эксплантов в варианте), мощности развития каллуса, содержания в тканях ионов натрия. В таблицах приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

Для эксплантов *in vitro* были характерны органоспецифичность и видовые особенности солеустойчивости. Высокую в целом степень снижения показателей жизнеспособности обнаружили экспланты фасоли и огурца (табл. 1). Наименее чувствительными у фасоли оказались экспланты гипокотилей (ЭГ): их процент с каллусом при сильном засолении (1% NaCl) снижался незначительно, тогда как у семядолей (ЭС) и листьев (ЭЛ) — в 2–3 раза, а в варианте с 0,5% у гипокотилей даже несколько стимулировала каллусогенез. Солевой стресс сильнее подавлял также и прирост биомассы экспланта и каллуса у ЭЛ, чем ЭГ.

Еще более чувствителен к солевому стрессу процесс корнеобразования, который подавлялся у фасоли уже в варианте 0,5% NaCl. У огурца гипокотили проявили большую чувствительность к засолению, чем семядоли (табл. 1). Введение в среду культивирования NaCl в концентрации 1% приводило к высокой летальности гипокотильных эксплантов баклажана. У ЭС баклажана, как и огурца, снижение показателей выживаемости, интенсивности и мощности каллусообразования оказалось менее значительным, чем у ЭГ. У эксплантов подсолнечника подавление жизнеспособности происходило в меньшей степени, чем у фасоли и баклажана, при этом наименьшую чувствительность к засолению проявили ЭС, максимальную — листьев. Наиболее выраженное снижение биомассы наблюдалось у ЭС огурца — в 3,4 раза по сравнению с контролем уже при засолении 0,5% NaCl, при повышении концентрации до 1,0% каллусообразование полностью подавлялось (рис. 1). У эксплантов свеклы внесение соли (1%) существенно не снижало жизнеспособности, но в ряде случаев даже стимулировало рост каллуса (табл. 1). Высокую чувствительность проявили экспланты гипокотилей, меньшую — семядолей.

Таблица 1

Реакция эксплантов фасоли (А), подсолнечника (Б), баклажана (В), томата (Г), огурца (Д) и свеклы (Е) на внесение NaCl в питательную среду

Варианты		А	Б	В	Г	Д	Е
		Выживаемость, %					
ЭГ	1	100	100	60±10	95±5	100	100
	2	95±5	90±10	55±8	40±10	25±10*	-
	3	60±10*	55±5*	20±9*	20±10	0	75
ЭС	1	50±10	100±0	95±5	80±10	100	75
	2	25±5	100±5	80±5	70±5	50±10*	-
	3	15±5*	75±10	41±11*	25±10	10±5*	100
ЭЛ	1	70±9	60±9	100	80±9	-	100
	2	70±9	50±9	100	65±10	-	-
	3	30±10*	40±8	100	50±10	-	100
		Каллусообразование, %					
ЭГ	1	95±10	85±9	65±10	78±10	100	95
	2	85±10	80±10	55±10	40±10	25±10*	-
	3	70±10	50±8	0*	5±2*	0	75
ЭС	1	65±10	100±5	75±10	80±10	90±10	100
	2	15±1	90±10	70±10	75±10	15±5*	-
	3	25±5*	70±10	50±10*	20±10	0	100
ЭЛ	1	75±10	25±5	90±10	90±8	-	100
	2	30±7*	20±5	85±10	70±10	-	-
	3	25±5*	10 ± 3*	85±5	60±5*	-	100

Примечание: 1) обозначения вариантов: 1 — МС+РР (ИМК (0.5 мг/л) +БАП (2.5 мг/л)); 2 — МС+РР+NaCl (0.5%); 3 — МС+РР+NaCl (1%); 2) данные приведены на 28-й день опыта. Прочерк (-) — наблюдения не проводились.

При сравнении реакции эксплантов близкородственных видов — фасоли и маша (табл. 2) в целом можно отметить ее однотипность у гомологичных структур. У обоих объектов большая чувствительность отмечена у ЭС по сравнению с ЭГ. Снижение показателей выживаемости, каллусообразования и относительного накопления биомассы каллуса у фасоли было несколько более выраженным.

Культивирование эксплантов на питательной среде МС с NaCl сопровождалось накоплением натрия в тканях эксплантов (рис. 2). Следует отметить интенсивность

этого накопления и некоторые различия между объектами. Экспланты семядолей и гипокотилей маша, которые проявили большую устойчивость к соли в условиях *in vitro*, характеризовались несколько меньшим содержанием Na^+. Интенсивное накопление натрия наблюдалось в эксплантах чувствительного к засолению огурца.

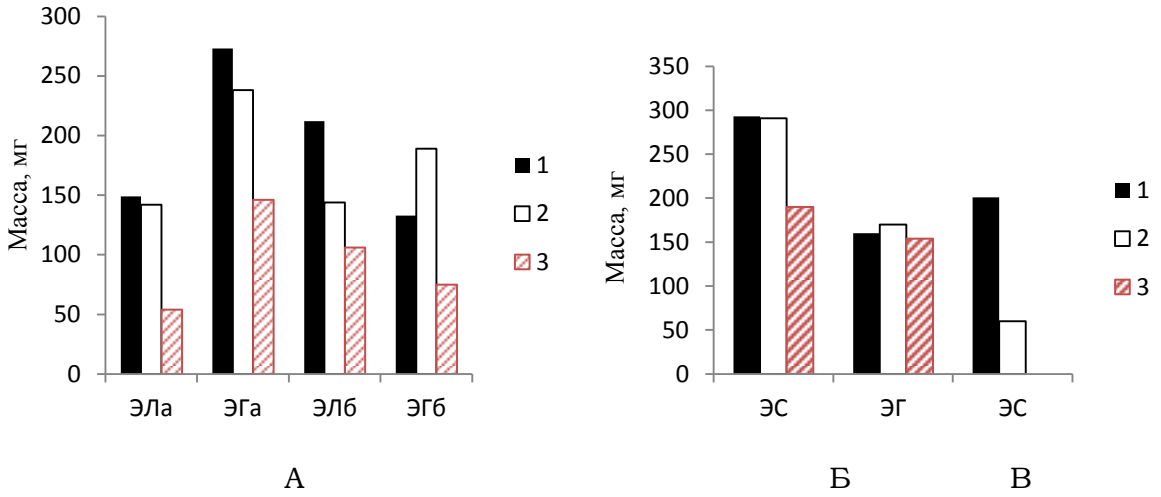


Рис. 1. Биомасса (мг) эксплантов фасоли (А), подсолнечника (Б) и огурца (В) в контроле (1) и при засолении среды NaCl 0,5 и 1.0% (2, 3)

Примечание: а — масса каллуса, б — масса экспланта. У подсолнечника и огурца приведена общая масса экспланта и каллуса. При засолении 1% NaCl отмечена высокая летальность ЭС огурца без образования каллуса.

Таблица 2

Реакция эксплантов фасоли и маша на внесение NaCl в питательную среду

Экспланты и варианты			Выживаемость, %	Каллусообразование		
				%	масса, мг	ОНБ
Фасоль	ЭС	1	100	100	297±76	1.00
		2	100	20	119±29*	0.40
		3	50	10	85±12*	0.29
	ЭГ	1	100	100	182±20	1.00
		2	100	25	183±6	1.01
		3	60	10	112±9	1.05
Маш	ЭС	1	100	100	131±38	1.00
		2	100	35	62±28	0.47
		3	70	20	85±12	0.65
	ЭГ	1	100	100	134±17	1.00
		2	100	75	113±15	0.84
		3	80	50	103±11	0.76

Примечание. Учитывали общую массу экспланта и каллуса. Варианты: 1 — МС+РР, 2 — МС+РР+ NaCl 0.5%; 3 — МС+РР+NaCl 1.0%. ОНБ — относительное накопление биомассы каллусной ткани по отношению к контролю.

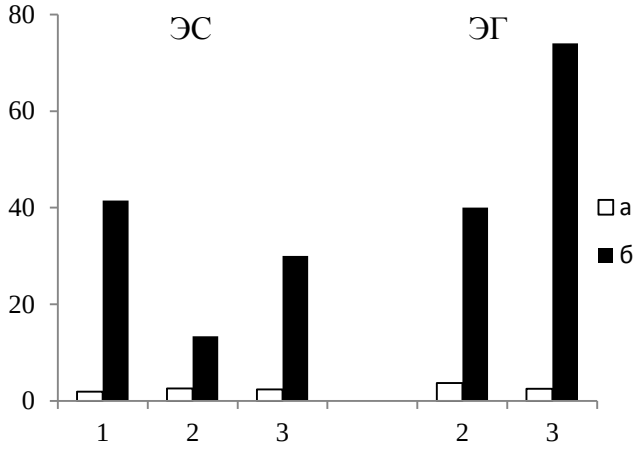


Рис. 2. Накопление натрия эксплантами семядолей (ЭС) и гипокотилей (ЭГ) фасоли (1), маша (2) и огурца (3)

Примечание. Анализировано содержание Na^+ на среде МС + ИМК + БАП (0.5 : 2.5 мг/л (а), и МС + ИМК + БАП + NaCl (б). В опытах с ЭС NaCl использован в дозе 0.5%, ЭГ — 1.0%.

В целом в наших опытах *in vitro* наблюдалась большая устойчивость эксплантов более солеустойчивых свеклы и подсолнечника, меньшая — чувствительных фасоли и огурца, с проявлением и специфики реакции органов. Различия между объектами и эксплантами наблюдались в интенсивности каллусообразования, относительном накоплении биомассы каллусной ткани [Алиева и др., 2007], содержании в тканях ионов натрия.

Библиографический список

Алиева З.М., Омарова З.А., Юсуфов А.Г. О связи реакции каллусов разных структур на засоление с солеустойчивостью культурных растений // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2007. №2. С. 77–79.

Терлецкая Н.В. Неспецифические реакции зерновых злаков на абиотические стрессы *in vivo* и *in vitro.* Алматы, 2012. 208 с

Керимов Ф., Кузнецов Вл.В., Шамина З.Б. Организменный и клеточный уровни солеустойчивости двух сортов хлопчатника (133, ИНЭБР-85) // Физиология растений. 1993. Т. 40, №1. С. 128–131.

Лукаткин А.С., Гераськина А.В. Скрининг клеточных культур огурца на повышенную холодоустойчивость // Биотехнология. 2003. №3. С. 65–73.

Elwan M.W.M. Explant type, regeneration stage and pre-conditioning affect *in vitro* salinity tolerance in sweet pepper (*Capsicum annuum* cv. California wonder) // African Crop Science Conference Proceeding. 2007. V. 8. P. 1951–1956.

Song L. Jiang H., Zhao H., Zhang Zh. Comparative Stady on Calli from Two Reed Ecotypes under Heat Stress // Физиология растений. 2012. Т. 59, №3. С. 419–426.

УДК 619:615.281

Ю.С. Аликин[1], Л.Р. Лебедев[1], И.В. Морузи[2], В.Ф. Подгорный[1], В.А. Понюхов[2], Г.А. Ноздрин[2], В.П. Клименко[1], Ю.В. Телегина[1], В.В. Ермолаев[1]

[1]Институт медицинской биотехнологии Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Бердск, Россия)

[2]Новосибирский государственный аграрный университет (Новосибирск, Россия)

КОМПЛЕКС ПРЕПАРАТОВ БАВ (ПРОБИОТИКОВ, РНК, ЦИТОКИНОВ, ФЕРМЕНТОВ) ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЖИВОТНЫХ И ПОЛУЧЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ ПРОДУКТОВ В АПК

Основываясь на природных механизмах противоинфекционной защиты, разработан ряд противовирусных и иммуномодулирующих препаратов на основе одно- и двуспиральных РНК (Полирибонат, Ридостин), цитокинов и лимфокинов (Реаферон, Альнорин) а также ферментов (РНК-аза, ДНК-аза, Эндонуклеаза, Эндоглюкин и Профезим). Эти препараты способны предохранять от вирусных заболеваний крупный рогатый скот, поросят, птиц, рыб и пчел, корректировать иммунодефициты, повышать эффективность вакцинации. Применение комплекса препаратов биологически активных веществ (БАВ), разработанных в ИМБТ совместно с другими научными учреждениями, позволяет получать экологически чистые продукты питания, снижать нагрузку антибиотиков, стимуляторов, гормонов и ГМО у животных, привести к оздоровлению населения, созданию новых рабочих мест.

Ключевые слова: комплекс препаратов БАВ (пробиотиков, РНК, цитокинов, ферментов) для получения экологически чистых продуктов АПК.

Yu.S. Alikin[1], L.R. Lebedev[1], I.V. Moruzi[2], V.F. Podgorny[1], V.A. Ponyhov[2], G.A. Nozdrin[2], V.P. Klimenko[1], Yu.V. Telegina[1], V.V. Ermolaev[1]

[1]Institute of Medical Biotechnology State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" (Berdsk, Russia)

[2]Novosibirsk Agrarny Unuversity (Novosibirsk, Russia)

THE COMPLEX OF BAS PREPARATIONS (PROBIOTICS, RNA, CYTOKINES, ENZYMES) FOR MAINTENANCE OF ANTI-INFECTIOUS SUSTAINABILITY OF FARM ANIMALS AND MANUFACTURING OF ENVIRONMENTALLY FRIENDLY FOODSTUFF IN THE AGRO INDUSTRY

A complex of BAS-based veterinary preparations has been designed and developed. It includes anti-infectious activities based on interferon inductors (Vestin, Ridostin, Provest), cytokines (TNF-alpha), probiotics (Subalin), enzymes (Endoglyukin, Profezim), and RNA-based immunomodulator (Polyribonat). The developed drugs and application methods allow using them as ethiotropic agents for emergency prevention and treatment of viral diseases of calves, pigs, carnivorous, birds and fish; immunodeficiency correction and vaccine potentiation. The manufacturing of these agents can lead to creating of the new technology for veterinary services in the country (by reducing the use of antibiotics and hormones) and to obtaining organic food, promoting public health and creating of new high-biotechnological work places.

Key words: complex of BAS (probiotics, RNA, cytokines, enzymes for obtaining organic food.

В современном животноводстве, в том числе птицеводстве, рыбоводстве и пчеловодстве России остро стоит проблема профилактики и борьбы с массовыми инфекционными болезнями животных (особенно молодняка) вирусного и бактериального характера, обусловленными вторичными иммунодефицитами различного происхождения, широким распространением латентного вирусного и бактериального носительства, технологическими и техногенными факторами, нарушением обменных процессов, ослабляющих иммунный статус организма. Все это требует применения препаратов, обладающих этиотропным противовирусным действием и корректирующих иммунный ответ у таких организмов [Аликин, 2012].

Потребность в противовирусных и антибактериальных средствах определяется высоким уровнем заболеваемости. Среди 10 млн телят в стране 50–60% болеют инфекциями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), респираторными заболеваниями — 35–45%; среди 20 млн поросят инфекциями ЖКТ болеют 40–50%, респираторными заболеваниями — 4–25%; при численности птиц 217,6 млн голов заболеваемость вирусными и ассоциированными инфекциями достигает 10–30%. Заболеваемость гнойно-некротическими инфекциями — 10 млн телят и 20 млн взрослого поголовья КРС; некробатериозом конечностей и другими — 15–20%; эндометритами — 35–40%; маститами — 30–35%. В пчеловодстве применение противовирусного препарата является обоснованным в связи с так называемым коллапсом пчел, одна из причин появления которого в мировой практике пчеловодства — вирусные болезни. Противовирусных средств для рыбоводства вообще не разработано. Кроме того, существует угроза биотерроризма, особенно в отношении антропозоонозов и очаговых инфекций. Таким образом, потребность в препаратах, обеспечивающих профилактику и терапию у животных, птиц, рыб и пчел, может достигать десятков и даже сотен млн. доз в год.

В общих чертах противоинфекционный и противовирусный (в первую очередь) механизмы защиты организма, сформированные в процессе эволюции, обеспечиваются тесным взаимодействием различных РНК, компонентами цитокиновой сети, ферментами, такими как нуклеазы и протеазы. Основываясь на природных механизмах противоинфекционной защиты, в «Векторе» разработан ряд противовирусных и иммуномодулирующих препаратов на основе одно- и двуспиральных РНК (Полирибонат, Ридостин), цитокинов и лимфокинов (Реаферон, Альнорин), а также ферментов (РНК-аза, ДНК-аза, Эндонуклеаза, Эндоглюкин и Профезим).

На основе однонитевых и двуспиральных РНК из дрожжей Saccharomyces cerevisiae разработаны препараты для ветеринарной медицины: Полирибонат (Поливедрим) и Вестин (Ридостин), обладающие широким спектром биологической активности в качестве средств — стимуляторов неспецифической резистентности. Препараты двуспиральных РНК в качестве стимуляторов неспецифической резистентности действуют на разные классы позвоночных животных: млекопитающих, птиц и рыб [Аликин и др., 2014]; способны значительно повышать эффективность вакцинации против бактериальных и вирусных инфекций у сельскохозяйственных животных и птиц. Индукторы интерферона способны активизировать фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов, натуральные киллеров, действуя на Т- и В-клеточные звенья иммунитета, повышать эффективность вакцинации в организме животных и птиц [Аликин и др., 2012].

Действие препаратов цитокинов и их индукторов обусловлено их способностью после инъекции в организм человека и животных вызывать синтез эндогенных интерферонов: альфа-, бета- и гамма-интерферонов в высоких концентрациях, а также других цитокинов: интерлейкинов, факторов некроза опухолей и др. Как известно, альфа- и бета-интерфероны — мощные противовирусные средства,

а гамма-интерферон и другие лимфокины — активные иммуномодуляторы. Их совместное действие позволяет за короткий промежуток времени подготовить организм к эффективной противоинфекционной защите.

Ферменты обмена нуклеиновых кислот играют важную роль в процессах реализации потенциала генотипа. Изучение механизма действия нуклеаз привлекательно с позиций выяснения их роли в качестве эффекторных молекул противовирусной защиты клеток. На основе секретируемой эндонуклеазы Serratia marcescens. разработан препарат для пчеловодства — Эндоглюкин [Аликин, 2014]. По результатам технологических и биохимических исследований, а также биологических испытаний препарата в экспериментальных и производственных условиях были проведены широкие производственные испытания, и препарат был утвержден в качестве противовирусного средства и стимулятора развития в пчеловодстве. Эндоглюкин предназначен для лечения и профилактики вирусных болезней пчел и стимуляции развития пчелиных семей. Кроме того, в настоящее время проводятся испытания препарата, расширяющие его сферу применения в качестве противовирусного средства в птицеводстве против болезни Марека, в животноводстве — против респираторных болезней телят, в растениеводстве — для получения безвирусных форм картофеля. На основе другого представителя гидролитических ферментов (протеаза из Bacillus subtilis) разработан препарат Профезим, способный подавлять бактериальную раневую инфекцию. Применение Профезима и Эндоглюкина как по отдельности, так и в комплексе с пробиотиками позволяет обеспечить системное воздействие на организм с целью повышения специфической и неспецифической защиты при инфекционной патологии, а также для профилактики инфекционных заболеваний.

Современные мировые тенденции в области производства кормов для сельскохозяйственных животных и птиц, а также их профилактики и лечения направлены на ограничение или полный запрет использования антибиотиков. В качестве альтернативы антибиотикам могут рассматриваться пробиотики, препараты РНК, повышающие иммунологическую реактивность организма, маннановые олигосахариды (МОС), биологически активные пептиды и другие вещества, являющиеся продуктами микробиологического синтеза [Ноздрин и др., 2014].

В ИМБТ разработана безотходная технология одновременного получения из дрожжей Saccharomyces cerevisiae препаратов на основе РНК, а из отходов — кормовых добавок, содержащих маннановые олигосахариды (МОС). Новая высокоэффективная кормовая добавка (денуклеотизированный дрожжевой продукт — ДНДП) позволяет избежать последствий, связанных с нарушением нуклеинового обмена у животных. Кроме того, введение в ДНДП цеолита позволяет получить продукт, удобный для применения в птицеводстве и животноводстве, благотворно влияющий на продуктивность и резистентность животных и птицы.

Таким образом, применение комплекса препаратов биологически активных веществ (БАВ), разработанных в ИМБТ совместно с другими научными учреждениями, позволяет получать экологически чистые продукты питания по ценам в 5–10 раз ниже мировых для продуктов подобного класса, снижать нагрузку антибиотиков, стимуляторов, гормонов и ГМО у животных. Последующая организация высоконаукоемкого биотехнологического производства перечисленных средств может привести к созданию новой технологии ветеринарного обслуживания в Российской Федерации и странах СНГ (за счет снижения применения антибиотиков и гормонов) и получению экологически чистых продуктов питания, оздоровлению населения, созданию новых рабочих мест.

Библиографический список

Аликин Ю.С. Комплекс препаратов РНК для обеспечения противоинфекционной устойчивости животных // Фармацевтические и медицинские биотехнологии. Фармацевтические биотехнологии для ветеринарии : материалы Междун. науч.-практ.конф., Москва, 20–22 марта 2012 г. М., 2012. С. 312–313.

Аликин Ю.С. Биологически активные вещества для промышленного пчеловодства // Построение региональной биоэкономики: проблемы и решения : материалы II Междун. экономич. форума «БиоКиров-2014» (г. Киров, 17–19 июня 2014 г.). Киров, 2014. С. 7–9.

Аликин Ю.С., Смоленский В.И., Подгорный В.Ф., Лебедев Л.Р., Клименко В.П., Понюхов В.А., Понюхова Е.П. Комплексные препараты биологически активных веществ для профилактики и лечения инфекционной патологии птиц // Материалы II Международного ветеринарного конгресса, VIII Международного ветеринарного конгресса по птицеводству, Москва, 19–22 апреля 2012 г. М., 2012. С. 116–122.

Аликин Ю.С., Щелкунов И.С., Щелкунова Т.И. Проблемы отечественной вирусной ихтиопатологии и пути их решения // Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2014. №1. С. 56–59.

Ноздрин Г.А., Иванова А.Б., Морузи И.В., Аликин Ю.С., Лебедев Л.Р., Клименко В.П., Подгорный В.Ф. Роль фармако-биотехнологии в становлении органического животноводства и получение экологически чистых продуктов питания // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии : материалы III Междун. конгресса фармакол. и токсикол. СПб., 2014. С. 194–196.

УДК 615.322:582.734

Н.Г. Базарнова, Л.И. Тихомирова, Н.С. Фролова

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ ЛАПЧАТКИ БЕЛОЙ (*POTENTILLA ALBA* L.) РАЗЛИЧНОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ

Проведен качественный и количественный анализ экстрактивных веществ интактных растений лапчатки белой (*Potentilla alba* L.) и растений-регенерантов, полученных в условиях гидропоники, сопряженной с микроклональным размножением. Установлена подлинность растений-регенерантов методом ТСХ-хроматографии. Охарактеризован групповой химический состав методом УФ-спектроскопии.

Ключевые слова: лекарственное растительное сырье, лапчатка белая, *Potentilla alba* L., интактные растения, растения-регенеранты, экстрактивные вещества, химический состав, флавоноиды, ТСХ-хроматография, УФ-спектроскопия.

N.G. Bazarnova, L.I. Tikhomirova, N.S. Frolova

Altai State University (Barnaul, Russia)

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF MEDICINAL RAW MATERIALS CINQUEFOIL WHITE (*POTENTILLA ALBA* L.) DIFFERENT WAYS OF GETTING THE

Conducted qualitative and quantitative analysis of extractives of intact plants cinquefoil white (Potentilla alba L.) and regenerated plants obtained in the hydroponics coupled with microclonal reproduction. Installed the authenticity of regenerated plants by TLC-chromatography. Characterized group chemical composition by UV-spectroscopy.

Key words: medicinal herbs, bloodroot white, *Potentilla alba* L.,intact plants, regenerated plants, extractive substances, chemical composition, flavonoids, TLC-chromatography, UV-spectroscopy.

P. alba вошла в официальную медицину более 30 лет назад [Китаева, 2012]. Известно, что это растение содержит углеводы (крахмал), иридоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, дубильные вещества [Гриценко, Смык, 1977; Лавренов, Лавренова, 1999; Семёнова, Преснякова, 2001]. Лекарственные средства на основе *P. alba* оказывают влияние на щитовидную железу [Захария, 1997; Архипова, 2012]. Несмотря на то, что растение наиболее широко применяется при лечении гиперфункции железы (тиреотоксикозе), отмечен положительный эффект и при лечении гипофункции [Смик и др., 1975; Приходько, 1976]. Именно тиреотропной активностью корней лапчатки белой исследователи объясняют тот факт, что в Белорусском Полесье, где распространена практика употребления лапчатки в виде отвара вместо чая, после аварии на Чернобыльской АЭС было зафиксировано крайне мало случаев заболевания эндемическим зобом по сравнению с другими районами, прилегающими к месту трагедии (Лавренов, Лавренова, 1999). Кроме того, фитотерапевты рекомендуют применять *P. alba* при профилактике и терапии заболеваний печени, сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта, а также как антисептическое и ранозаживляющее средство [Шимко, Хишова, 2010]. Несмотря на обширный ареал, природные запасы лапчатки достаточно скудны и не могут удовлетворить современных потребностей фармацевтической промышленности [Смык, 1976].

Учеными Алтайского государственного университета разработан способ получения лекарственного растительного сырья лапчатки белой в условиях гидропоники, сопряженной с клональным микроразмножением [Патент РФ №2525676, 2014; Заявка на патент РФ №2014133881/17(054704; 2014)].

Цель данного исследования — сравнить содержание биологически активных веществ в растительном сырье *P. alba,* выращенного в полевых условиях и в условиях гидропоники, сопряженной с микроклональным размножением.

В отделе биотехнологии растений Южно-Сибирского ботанического сада Алтайского государственного университета (АлтГУ) впервые получена биомасса растений-регенерантов лапчатки белой в условиях гидропоники, сопряженной с клональным микроразмножением. На кафедре органической химии химического факультета АлтГУ проведено комплексное исследование химического состава лекарственного сырья лапчатки белой (интактных растений), выращенного в полевых условиях и используемого в производстве ЗАО «Эвалар» (Бийск, Россия), и сырья полученного альтернативным способом в отделе биотехнологии (растений-регенерантов).

Определено количественное содержание структурных компонентов в корнях и корневищах исследуемых растений. Содержание целлюлозы в корнях и корневищах интактных растений составляет 15,4%, в корнях растений-регенерантов — 4,3%, в биомассе надземной части растений-регенерантов — 2,5%. Содержание лигнина в корнях и корневищах интактных растений составляет 40,7%, в корнях растений-регенерантов — 37,0%, в биомассе надземной части растений-регенерантов — 36,8%. По данным ИК-спектроскопии структура лигнинов идентична.

Найдено количественное содержание экстрактивных веществ. В результате последовательной обработки биомассы *Potentilla alba* гексаном, 96%, 40% растворами этанола, водой и 1% водным раствором гидроксида натрия установлено, что суммарное содержание экстрактивных веществ в корнях и корневищах интактных растений составляет 15,3%, в корнях растений-регенерантов — 11,2%, в биомассе надземной части растений-регенерантов — 5,1%.

Биологически активные вещества в растениях-регенерантах идентичны биологически активным веществам интактного растения, идентифицированных с помощью качественных реакций. Установлена подлинность исследуемых образцов

Potentilla alba методом ТСХ-хроматографии: образцы биомассы лапчатки, полученной методом клонального микроразмножения, соответствуют образцам биомассы лапчатки, выращенной в естественных условиях, по качественному составу.

Методом ТСХ установлено, что в экстрактах 96% водного раствора этанола, полученных из биомассы корней и корневищ интактных растений, корней и надземной части растений-регенерантов, содержится 4 одинаковых группы веществ с Rf, равных 0,58, что соответствует цинарозиду, 0,61 — рутину, 0,93 — апигенину, 0,97 — кверцетину.

В составе экстрактов, извлеченных 96%, 40% водными растворами этанола, водой и 1% водным раствором NaOH из корней и корневищ интактных растений и корней растений-регенерантов, а также надземной части растений-регенерантов, доминирующими являются соединения фенольной природы с max поглощения при λ = 279,5 — 280,0 нм.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать вывод о том, что лекарственное растительное сырье *Potentilla alba*, полученное в условиях гидропоники, сопряженной с микроклональным размножением (возраст растений 2 месяца), идентично по качественному составу и незначительно уступает по количественному содержанию биологически активных веществ сырью, выращенному в полевых условиях ЗАО «Эвалар» (3–4 года).

Библиографический список

Архипова Э.В. Влияние экстракта *Potentilla alba* L. и комплексного средства «Тиреотон» на течение экспериментального гипотиреоза : автореф. дис. … канд. мед. наук. Улан-Удэ, 2012. 21 с.

Гриценко О.М., Смык Г.К. Фитохимические исследования лапчатки белой // Фармацевтический журнал. 1977. №1. С. 88–92.

Захария А.В. Исследование лапчатки белой, как перспективного средства для лечения заболеваний щитовидной железы : автореф. дис. … канд. биол. наук. Львов, 1997. 24 с.

Мелик-Гусейнов В.В. Атлас растений: растения в народной медицине России и сопредельных государств. Пятигорск, 2011. 608 с.

Заявка на патент РФ №2014133881/17(054704; 2014). Способ получения лекарственного растительного сырья лапчатки белой (Potentilla alba L) в условиях гидропоники.

Китаева М.В. Введение в культуру *in vitro* редких лекарственных растений *Potentilla L.* Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры // Материалы Междун. конф., посвященной 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси, 19–22 июня 2012 г., Минск, Беларусь. Минск, 2012. С. 398–401.

Лавренов В.К., Лавренова Г.К. Полная энциклопедия лекарственных растений. СПб. ; М., 1999. Т. 1. 736 с.

Патент РФ №2525676, МПК A01H 4/00. Способ получения лапчатки белой (*Potentilla alba* L.).

Приходько Е.И. Лечение больных тиреотоксикозом травой пестрач белый // Врачебное дело. 1976. №6. С. 66–71.

Семёнова Е.Ф., Преснякова Е.В. Химический состав лапчатки белой и применение ее с лечебной целью // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. 2001. №5.

Смик Г.К., Кривенко В.В. Перстач білий — ефективный засиб для ликування захворювань щитовидної залози // Фармацевтичний журнал. 1975. №2. С. 58–62.

Смык Г.К. Использование лапчатки белой как нового лекарственного растения, восстановление запасов ее в природе и возможности культуры // Новые культуры в народном хозяйстве и медицине : в 2 ч. М., 1976. Ч. 1. С. 41–42.

Шимко О.М., Хишова О.М. Оценка травы лапчатки белой // Вестник фармации. 2010. №1 (47). С. 17–24.

УДК 58.085

Н.А. Величко, Я.В. Смольникова

Красноярский государственный аграрный университет (Красноярск, Россия)

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ *DIGITALIS PURPUREA* L.

Определены оптимальные условия для прироста биомассы и накопления сердечных гликозидов в каллусной ткани *Digitalis purpurea* L. В результате проведенного математического моделирования можно сделать вывод о том, что оптимальные режимы культивирования каллусной ткани *Digitalis purpurea* L. для прироста биомассы и накопления гликозидов различаются только по одному параметру — фотопериоду. Для максимального прироста биомассы необходимо проводить культивирование при фотопериоде 12 ч, а для накопления гликозидов ткань следует культивировать при 18-часовом фотопериоде, таким образом, оптимальным можно считать среднее значение фотопериода 16 ч.

Ключевые слова: *Digitalis purpurea* L., каллусная ткань, сердечные гликозиды, оптимизация.

N.A. Velichko, Y.V. Smolnikova

Krasnoyarsk State Agrarian University (Krasnoyarsk, Russia)

OPTIMIZATION OF CULTURE CONDITIONS CALLUS TISSUE *DIGITALIS PURPUREA* L.

The optimal conditions for biomass growth and accumulation of cardiac glycosides in the callus tissue *Digitalis purpurea* L. identified. As a result of mathematical modeling it can be concluded that the optimal conditions of culturing the callus tissue *Digitalis purpurea* L. for biomass growth and accumulation of glycosides differ only by one parameter — the photoperiod. For maximum biomass growth is necessary to carry out the cultivation at a photoperiod of 12 h, and for the accumulation of glycosides tissue should be cultured for 18-hour photoperiod, thus, can be considered optimal average photoperiod of 16 h.

Key words: *Digitalis purpurea* L., callus tissue, cardiac glycosides, optimization.

На сегодняшний день из растений получают более трети всех лекарственных субстанций, используемых в медицинской практике. Структура многих из них настолько сложна, что растения еще долго будут являться их единственным источником [Валиханова, 1996, с. 157].

В связи с этим идет поиск новых альтернативных источников получения биологически активных веществ растительного происхождения. Одним из таких источников являются культуры клеток растений, преимущества использования которых для получения биологически активных веществ широко признаны в настоящее время [Бабикова и др., 2007, с. 184; Misawa, 1994, p. 55; Mulabagal, 2004, p. 29–84].

Культура растительных клеток позволяет сравнительно быстро получать многочисленные популяции в управляемых и контролируемых условиях среды на ограниченном пространстве и идентифицировать линии растений с повышенной биологической продуктивностью [Волова, 1999, с. 197].

Наперстянка пурпурная (Digitalis purpurea L.) служит природным источником стероидных соединений карденолидов, которые широко применяются в современной фармакотерапии и не имеют синтетических аналогов. Гликозиды наперстянки избирательно действуют на сердце: усиливают систолу и углубляют диастолу, замедляют ритм сердечной деятельности, улучшают обменные процессы [Гацура, 1987, с. 265].

Несмотря на достаточно длительное исследование проблемы производства сердечных гликозидов наперстянки в культурах тканей [Hagimori, 1982, p. 656] выход метаболитов остается низким.

Целью данного исследования явилось нахождение оптимальных параметров культивирования каллусной ткани наперстянки пурпурной.

Объектом исследования являлась каллусная ткань, полученная из листовых пластин интактных растений наперстянки пурпурной. Культивирование каллусной ткани проводили на среде с минеральной основой по Мурасиге и Скугу с добавлением гормонов: ИУК (индолилуксусной кислоты) в концентрации 0,1 мг/л и 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты) в концентрации 0,1 мг/л.

Для проведения математического моделирования использовали программный пакет Maple.

Важными факторами, влияющими на скорость роста и продуктивность биомассы, являются: фотопериод — продолжительность световой фазы x_1, ч, температура x_2, °С, и концентрация сахарозы в среде x_3, г/л. Кроме того, эти факторы легко поддаются регулированию, а следовательно, могут быть оптимизированы.

Для определения максимального и минимального значений фотопериода и температуры культивирования концентрации сахарозы в среде были проведены предварительные эксперименты. В результате были установлены пороговые значения, ниже и выше которых наблюдались отсутствие прироста биомассы и гибель клеток. В качестве функции отклика были выбраны прирост биомассы за период культивирования y_1, мг а.с.м., и концентрация гликозидов в каллусной ткани *Digitalis purpurea* L. y_2,% от а.с.м.

Зависимость выхода биомассы от влияния нескольких факторов можно представить как функцию вида: $y = f(x_1, x_2, x_3, \ldots x_n)$. Для описания этой функции использовали уравнение регрессии. Величина коэффициента регрессии характеризует степень влияния соответствующего фактора на процесс.

Прирост биомассы y_1 представлен следующей функциональной зависимостью:

$$f_2(x_1, x_2, x_3) = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_1x_2 + b_5x_1x_3 + b_6x_2x_3 + \varepsilon(x_1, x_2, x_3), \quad (3.1)$$

где b_0 = 183,775; b_1 = -2,644; b_2 = -3,938; b_3 = -3,1115; b_4 = 0,0323; b_5 = 0,0455; b_6 =0,06775 — вычисленные коэффициенты регрессии.

На основании полученных коэффициентов регрессии можно сделать следующий вывод: все три исследуемых параметра оказывают влияние на прирост биомассы.

В замкнутой области $\Omega = [12; 18] \times [22; 30] \times [20; 30]$ функция трех переменных $y = f_2(x)$, $x = (x_1, x_2, x_3)$ достигает максимума (прирост биомассы 52,45 мг а.с.м.) в точке x^* = (12; 22; 20), что соответствует минимальным значениям исследуемых параметров. Функция достигает минимума (прирост биомассы 27,70 мг а.с.м.) в точке x_* = (18; 30; 30), что соответствует максимальным значениям фотопериода, температуры и концентрации сахарозы.

Таким образом, на основании математической модели для достижения максимального прироста биомассы можно рекомендовать следующие параметры культивирования каллусной ткани *Digitalis purpurea* L.: фотопериод — 12 ч, температура — 22 °С, концентрация сахарозы в среде — 20 г/л.

Зависимость содержания гликозидов в каллусной ткани *Digitalis purpurea* L. y_2, % от а.с.м., от фотопериода — продолжительности световой фазы x_1, ч, температуры x_2, °С, концентрации сахарозы в среде x_3, г/л имеет нелинейный характер и представлена следующей функцией:

$$f_3(x_1, x_2, x_3) = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_1x_2 + b_5x_1x_3 + b_6x_2x_3 + \varepsilon(x_1, x_2, x_3), \quad (3.2)$$

где b_0 = 1,975625; b_1 = 0,011875; b_2 = -0,05406; b_3 = -0,035625; b_4 = 0,0001042; b_5 = -8,333; b_6 = 0,0010625 — вычисленные коэффициенты регрессии.

С целью определения оптимальных параметров для накопления гликозидов в каллусной ткани *Digitalis purpurea* L. были построены графические зависимости содержания гликозидов от исследуемых параметров (рис. 1 и 2).

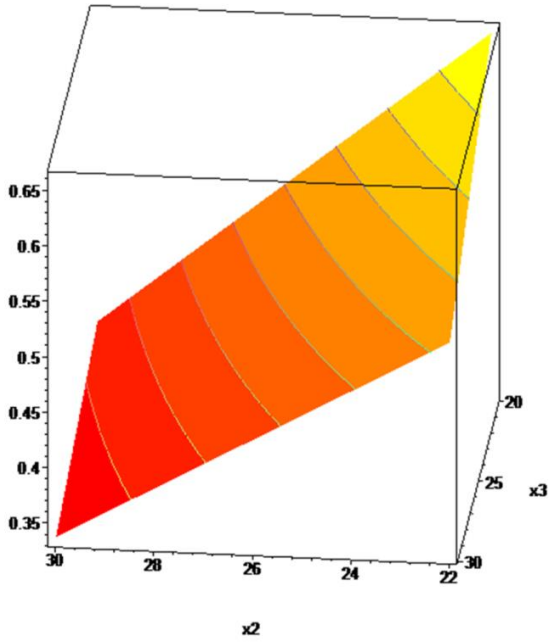


Рис. 1. Изменение содержания гликозидов в каллусной ткани *Digitalis purpurea* L. при среднем значении фотопериода x_1 (ч)

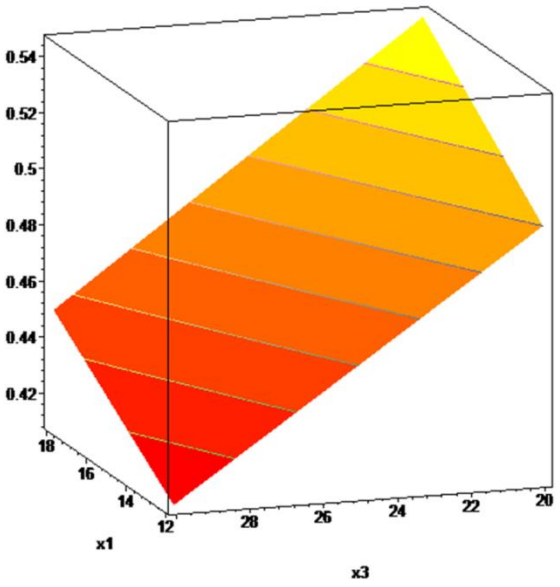


Рис. 2. Содержание гликозидов в каллусной ткани *Digitalis purpurea* L. при среднем значении температуры x_2 (°C)

Из приведенных результатов (рис. 1) следует, что наибольшее содержание гликозидов наблюдали в каллусной ткани, культивируемой при низких значениях температуры и концентрации сахарозы в среде.

Из приведенных на рисунке 2 результатов следует, что при среднем значении температуры содержание гликозидов наибольшее в тканях, культивируемых при максимальном значении фотопериода и минимальной концентрации сахарозы в среде.

Таким образом, в замкнутой области $\Omega = [12; 18] \times [22; 30] \times [20; 30]$ функция трех переменных $y = f_3(x), x = (x_1, x_2, x_3)$ достигает максимума (0,68% от а.с.м) в точке $x^* = (18, 22, 20)$, что соответствует значениям параметров: фотопериод — 18 ч, температура — 22 °C и концентрация сахарозы — 20 г/л, и минимума (0,32% от а.с.м) в точке $x_* = (12, 30, 30)$, что соответствует значениям параметров: фотопериод — 12 ч, температура — 30 °C и концентрация сахарозы — 30 г/л.

В результате проведенного математического моделирования можно сделать вывод о том, что оптимальные режимы культивирования каллусной ткани *Digitalis purpurea* L. для прироста биомассы и накопления гликозидов различаются только по одному параметру — фотопериоду. Для максимального прироста биомассы необходимо проводить культивирование при фотопериоде 12 ч, а для накопления гликозидов ткань следует культивировать при 18-часовом фотопериоде, таким образом, оптимальным можно считать среднее значение фотопериода 16 ч.

Библиографический список

Бабикова А.В. Горпеченко Т.Ю., Журавлев Ю.Н. Растение как объект биотехнологии // Комаровские чтения. Вып. IV. Владивосток, 2007. С. 184–211.

Валиханова Г.Ж. Биотехнология растений. Алматы, 1996. 272 с.

Волова Т.Г. Биотехнология. Новосибирск, 1999. 253 с.

Гацура В.В. Сердечные гликозиды как регуляторы биоэнергетики и функции контрактильных белков миокарда // Фармакологи и токсикология. 1980. №3. С. 265–273.

Hagimori M., Matsumoto T., Obi Y. Studies on the production of Digitalis Cardenolides by Plant Tissue Culture // Plant. Phisiol. 1982. Vol. 69. P. 653–656.

Misawa M. Plant tissue culture: an alternative for production of useful metabolite // FAO agricultural services bulletin. 1994. №108. P. 55–60.

Mulabagal V., Tsay H.-S. Plant cell cultures — an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites // International journal of applied science and engineering. 2004. Vol. 2. P. 29–48.

УДК 58.085

Н.А. Вечернина, О.К. Тавартkиладзе, Д.А. Дурникин, К.А. Смашных, М.К. Горина

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ ФИАЛКИ *SAINTPAULIA JONANTHA* (S. KEWENSIS C.B. KLARKE)

Разработан метод прямой индукции геммогенеза, а основной задачей стало изучение влияния регуляторов роста на индукцию морфогенеза в культуре листовых эксплантов сенполии.

***Ключевые слова**:* влияние, регулятор роста, культура экспланты, фиалка, индукция, морфогенез, цитокинины, ризогенез, каллусогенез.

N.A. Vechernina, O.C. Tavartkiladze, D.A. Durnikin, K.A. Smashnykh, M.K. Gorina

Altai State University (Barnaul, Russia)

MICROPROPAGATION PLANTS VIOLET *SAINTPAULIA JONANTHA* (S. KEWENSIS CB KLARKE)

We developed a method of direct induction gemmogeneza, and the main task — to study the effect of growth regulators on induction of morphogenesis in the culture of leaf explants Saintpaulia.

Key words: impact, growth regulator, culture explants, violet, induction, morphogenesis, tsitokoniny, root formation, callus formation.

Сенполия фиалковая, или узумбарская фиалка, — декоративное многолетнее травянистое растение семейства *Gesneriaceae*, до 30 см высотой, почти бесстебельное, многочисленные листья которого образуют розетку. В диком виде эти растения растут в Восточной Африке на склонах гор в прибрежной полосе. Вид *Saintpaulia jonantha* характеризуется большим разнообразием окрасок и форм цветков, обильностью и длительностью цветения, поэтому очень широко распространен в культуре и очень подходит для оформления интерьера жилых и служебных помещений. Многие высокодекоративные сорта сенполий получены в результате гибридизации *S. jonantha* с другим видом — *S. confusa* [Иванина, 1981; Сааков, 1983].

Самый распространенный способ размножения этих растений — листовыми черенками. Реже используется другие способы вегетативного размножения — уко-

ренение отпрысков, цветоносов и использование листовых пластинок без черешков. Размножение семенами чаще всего применяют в селекционной работе для получения гибридного потомства.

При традиционном способе вегетативного размножения новых гибридных форм или сортов возможно получение лишь небольшого числа молодых розеток, что препятствует их быстрому распространению. Однако современные методы биотехнологии позволяют размножить исходный посадочный материал любого нового сорта, даже если он представлен единичным экземпляром, значительно быстрее и с большим коэффициентом размножения, чем традиционные методы. Этим обусловливается широкое распространение метода микроразмножения в декоративном садоводстве.

Рядом авторов разработан и описан метод микроразмножения сенполий, основанный на индукции регенерации в культуре листового каллуса [Внучкова и др., 1991]. Показано также, что морфогенетический потенциал сенполий характеризуется ярко выраженной сортоспецифичностью [Майстренко и др., 1997]. При разработке метода массового размножения, необходимо учитывать, что использование регенерантов каллусного происхождения может отрицательно повлиять на сохранение сортовой чистоты из-за большой вероятности появления среди них сомаклональных вариантов, тогда как для новых сортов важным является сохранение всех сортовых признаков. Поэтому целью исследования явилась разработка метода прямой индукции геммогенеза, а основной задачей — изучение влияния регуляторов роста на индукцию морфогенеза в культуре листовых эксплантов сенполии.

Объектом нашего исследования являлся сорт Blue Dragon. В качестве первичного растительного материала использовали листья среднего яруса розетки, которые промывали в проточной воде и поверхностно стерилизовали в течение 3 мин в 0,1% растворе сулемы. После четырехкратного промывания в стерильной дистиллированной воде листовую пластинку делили на небольшие фрагменты 0,5 х 0,5 см и помещали на поверхность агаризованной питательной среды МС, дополненной экзогенными регуляторами роста. Культивирование осуществляли в условиях темноты и фотопериода. Выход неинфицированных, жизнеспособных эксплантов составил 75%.

Изучено действие различных концентраций цитокинина БАП на экспланты сенполии. Результаты эксперимента, проведенного в условиях фотопериода, представлены на рисунке 1.

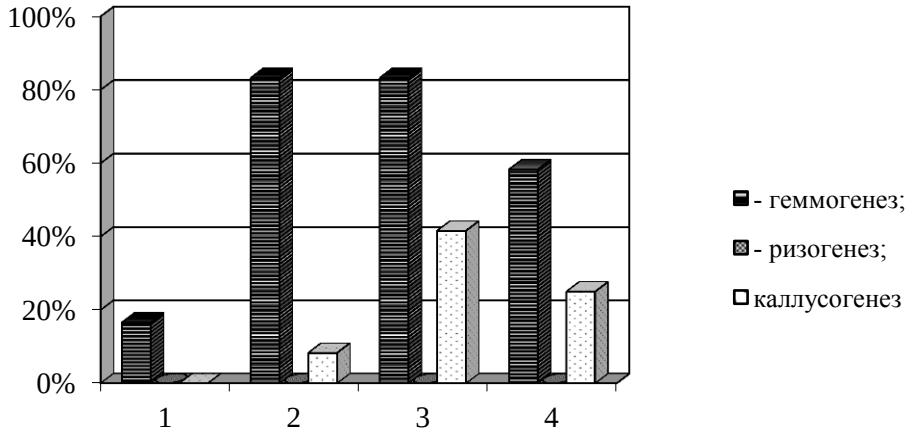


Рис. 1. Влияние БАП на частоту морфогенеза в культуре листовых эксплантов сенполии (n = 12):

1 — МС (контроль); 2 — БАП 2 мкМ; 3 — БАП 4 мкМ; 4 — БАП 10 мкМ

Было установлено, что на безгормональной питательной среде МС только у некоторых эксплантов (16.6%) регенерировали почки, тогда как на питательных средах с цитокинином частота регенерации почек была выше. Показано также, что введение в состав питательной среды относительно высокой концентрации БАП (10 мкМ) оказывает токсичный эффект на экспланты, поэтому только часть из них (58.3%) оказалась способной к геммогенезу, тогда как у остальных наблюдался некроз ткани. В условиях темноты на безгормональной питательной среде только у одного экспланта (частота регенерации составила 8.3%) регенерировали 3 почки; частота ризогенеза была выше — 25%.

В этих же условиях у 50% эксплантов на среде с 4 мкМ БАП регенерировали почки, а на средах с 2 и 10 мкМ БАП частота геммогенеза была ниже — 25%. Каллусогенез отмечен только у эксплантов, культивируемых на средах с 4 и 10 мкМ БАП (частота — 50 и 25% соответственно).

Интенсивность регенерационных процессов зависела от концентрации БАП: в условиях фотопериода и темноты у одного экспланта регенерировало 10–15 почек (2 мкМ БАП), 20–25 почек (4 мкМ БАП). Однако токсичный эффект относительно высокой концентрации БАП (10 мкМ) больше проявился в условиях темноты, так как на одном экспланте регенерировали только 1–3 почки, а в условиях фотопериода интенсивность геммогенеза была выше и составила 8–12 почек.

Использование в составе питательной среды, кроме цитокинина, регулятора роста другого типа (ауксина) может оказать влияние на проявление морфогенетического потенциала, и это влияние будет зависеть от того, в какой тип взаимоотношений они вступят, поступив из питательной среды в культивируемые ткани. Синергизм их действия проявится в интенсификации регенерационных процессов, а антагонизм — в затухании этих процессов.

В связи с вышесказанным изучено совместное действие цитокинина (БАП) и ауксина (НУК) на регенерационные процессы листовых эксплантов сенполии в условиях фотопериода (рис. 2) и темноты.

Результаты эксперимента показали, что действие регуляторов роста зависит от их концентрации и соотношения. Максимальная частота геммогенеза (100%) получена на питательных средах вариантов 4 и 5, интенсивность регенерации на обеих средах была одинакова и составляла 20–25 почек/эксплант.

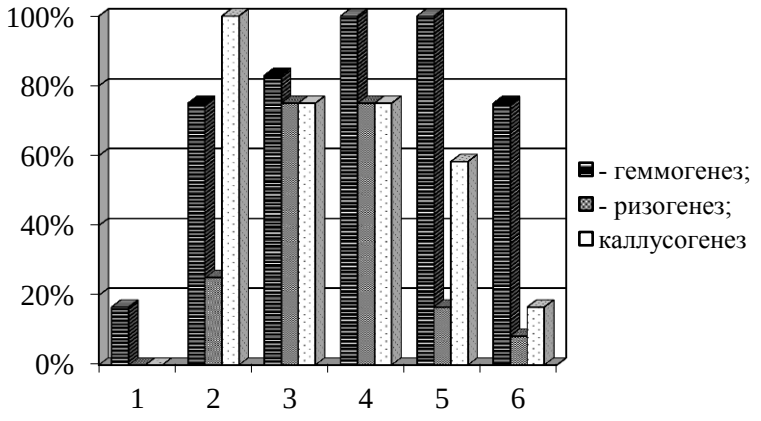


Рис. 2. Влияние совместного действия цитокинина и ауксина на частоту морфогенеза в культуре листовых эксплантов сенполии, n=12:

1 — МС (контроль); 2 — БАП 2 мкМ + НУК 2 мкМ; 3 — БАП 4 мкМ + НУК 4 мкМ; 4 — БАП 10 мкМ + НУК 10 мкМ; 5 — БАП 10 мкМ + НУК 2 мкМ; 6 — БАП 10 мкМ + + НУК 4 мкМ

В условиях темноты частота геммогенеза на этих средах была 33.3 и 8.3% соответственно. Интенсивность регенерации в этих условиях культивирования была ниже — 15–25 и 8–12 почек соответственно. Каллус формировался с относительно высокой частотой: 66,6 и 83,3% соответственно. Проведенные исследования показали, что практически на всех испытанных питательных средах, независимо от физических условий культивирования, на эксплантах регенерировали почки, а также с той или иной частотой формировался каллус. Совместное использование цитокининов и ауксинов позволило индуцировать прямой геммогенез с относительно высокой частотой, но при этом довольно интенсивно стимулировались процессы формирования морфогенного каллуса, способного к регенерации корней, а в последующем — к регенерации почек.

Однако при разработке метода клонального микроразмножения увеличение коэффициента размножения за счет регенерантов каллусного происхождения нежелательно. Поэтому миниатюрные розетки высотой 3–4 мм, полученные на 0-пассаже, отделяли от ткани экспланта и помещали на среду, содержащую только один регулятор роста — цитокинин (табл. 1).

На безгормональной среде к концу пассажа розетки росли и увеличивались в размере, у них регенерировали корни (5–8 шт./экспл.). У розеток, помещенных на среду с БАП, в базальной части происходила регенерация адвентивных почек, количество которых зависело от концентрации в питательной среде цитокинина: максимальное их количество (8–12 шт.) регенерировало в присутствии 2 мкМ. БАП.

Несмотря на то, что сравнительно невысокий коэффициент размножения получен при использовании 0,5 мкМ БАП, именно такую концентрацию цитокинина целесообразнее всего использовать для культивирования розеток сенполии, так как на такой питательной среде не происходит развитие каллуса, а размножение происходит за счет развития уже имеющихся боковых почек розетки, т.е. путем активации пазушного побегообразования.

Влияние БАП на регенерационные процессы в культуре изолированных почек сенполии (конец 1-пассажа), n = 30

БАП, мкМ	Высота розетки, мм	Количество регенерированных почек, шт.	Корни, +, –	Каллус, +, –
0	12–16	0	+	–
0.5	10–14	3–5	–	–
1	8–12	5–6	–	+
2	7–10	8–12	–	+
5	5–6	3–5	–	+

Именно такой прием размножения более всего можно сравнить с традиционным способом, называемым в практике цветоводства — размножение пасынками, который наиболее часто используется селекционерами для увеличения количества вновь полученных сортов. Такое размножение более всего соответствует клональному, так как полученный посадочный материал полностью повторяет все признаки исходного растения. Микроразмножение *in vitro* путем индукции пазушного побегообразования отличается от традиционного только более высоким коэффициентом размножения.

Окоренение розеток со 100% частотой происходило на безгормональной среде. Однако изучая влияние ауксинов на этот процесс, установили, что использование для стимуляции ризогенеза в состав среды необходимо вводить ИМК в относительно небольшой концентрации — 0,2 мкМ. Такое содержание ИМК в составе пита-

тельной среды индуцировало развитие большего числа корней (15–20 шт.), чем на безгормональной среде (5–8 шт.). Введение в состав питательной среды более высоких концентраций ИМК (0,5, 1, 2 мкМ), а также использование НУК вместо ИМК (0,2, 0,5, 1, 2 мкМ) стимулировали каллусогенез.

В среднем от одного листа можно ввести в асептическую культуру около 20 шт. эксплантов (с учетом 75% эффективности поверхностной стерилизации). Прямая регенерация почек и стимулирование пазушного побегообразования обеспечивают получение 1200–1500 шт. розеток за шесть месяцев культивирования. Коэффициент размножения кратно возрастает в зависимости от количества используемых листьев.

Библиографический список

Внучкова В.А., Бирюкова Н.Ф., Гулиев М.И., Лобиков Л.Д. Микроразмножение сенполий: минимум затрат, максимум пользы // Цветоводство, 1991. №2. С. 6.

Иванина Л.И. Семейство геснериевых (Gesneriaceae) // Жизнь растений. М., 1981. С. 436–439.

Майстренко Г.Г., Гордиенко Н.Я., Тищенко С.Ю. Морфогенез сенполий в культуре *in vitro* при экзогенном внесении гормонов // Биология клеток растений *in vitro*, биотехнология и сохранение генофонда : тез. докл. VII Междун. конф. (25–28 ноября 1997 г.). М., 1997. С. 125.

Сааков С.Г. Оранжерейные и комнатные растения и уход за ними. Л., 1983. 621 с.

УДК 332.365

О.Ю. Воронкова

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

ФОРМИРОВАНИЕ И РАЗВИТИЕ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА, ОРИЕНТИРОВАННОГО НА ПРОИЗВОДСТВО ОРГАНИЧЕСКОЙ (ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНОЙ) ПРОДУКЦИИ

Сегодня становится актуальной разработка вопросов, связанных с социально-экономической оценкой эффективности органически ориентированного сельского хозяйства и обоснованием механизма вовлечения залежных неиспользуемых земель с целью производства органической продукции. Незаполненная емкость рынка органической продукции и значительный земельный потенциал для развития органического земледелия создают все необходимые предпосылки для повышения конкурентоспособности российских сельских товаропроизводителей.

Ключевые слова: органическое сельское хозяйство, органические (экологически безопасные) продукты, рациональное природопользование, земельные ресурсы, экологизация землепользования, залежные земли, продовольственная безопасность, государственная поддержка, импортозамещение.

O.Y. Voronkova

Altai State University (Barnaul, Russia)

THE FORMATION AND DEVELOPMENT OF AGRICULTURE, BASED ON THE PRODUCTION OF ORGANIC (ENVIRONMENTALLY FRIENDLY) PRODUCTS

Today it is urgent to develop socio-economic assessment of the effectiveness of organically oriented agriculture and justification mechanism involving unused fallow land for the production of organic products. Unfilled capacity of the market of organic products and signif-

icant land potential for development of organic farming create all the necessary preconditions for increasing the competitiveness of Russian agricultural producers.

Key words: organic agriculture, organic (environmentally friendly) products, environmental management, land resources, greening land, fallow land, food security, government support, import substitution.

В настоящее время рынок органических продуктов представляется одним из наиболее развивающихся и перспективных направлений агропромышленного производства. Продовольственная безопасность страны, здоровье населения и качество его жизни во многом обусловлены развитием органического сельскохозяйственного производства, базирующегося на инновационных разработках в области альтернативного землепользования, сохранения природных ресурсов, прежде всего земельных. Вместе с тем незаполненная ниша рынка органической (экологически чистой) продукции и значительный земельный потенциал для развития органического земледелия создают все необходимые предпосылки для формирования и развития отечественного сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции.

Россия располагает всем необходимым для формирования сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции: многолетними аграрными традициями, обширными площадями сельскохозяйственных угодий, а также незначительным уровнем интенсификации и химизации АПК в сравнении с индустриально развитыми странами. Так, в среднем по странам Еврозоны внесение минеральных удобрений составляет 192 кг/га, тогда как в России — 39, а в Алтайском крае — 3,8 кг/га. В связи с этим становится актуальной разработка вопросов, связанных с перспективами развития сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции и обоснованием целесообразности вовлечения для этих целей в производственный оборот залежных и неиспользуемых сельскохозяйственных земельных ресурсов.

На основе изучения мирового опыта ведения сельскохозяйственного производства можно констатировать, что устойчивое развитие аграрной отрасли можно обеспечить только на основе оптимального использования имеющихся ресурсов производства. В сложившейся на сегодняшний день обстановке ограниченности материальных и финансовых средств существенным резервом производства может выступить экономически обоснованное рациональное использование имеющегося природного потенциала, в частности, формирование органического сектора сельского хозяйства, функционирующего на основе залежных и неиспользуемых сельскохозяйственных земельных ресурсов, пригодных для целей производства органической продукции, которые нами понимаются как резерв земель, пригодных для производства органической продукции.

Считаем, что сущность органического сельского хозяйства можно сформулировать как понятие, охватывающее все системы земледелия, основывающиеся на природных средствах и ресурсах, учитывающие естественные потребности растительного и животного мира, окружающей природной среды, основной целью которого выступает процесс производства экологической (органической) продукции, удостоверенной международными и национальными экологическими сертификатами.

Немаловажным фактором выбора системы ведения органического сельского хозяйства выступают обострившиеся проблемы социально-экономического развития сельских территорий, а также историческая ответственность за будущее сельскохозяйственной отрасли. За более чем 20-летний период, начиная с 1990 г. по настоящее время, произошло снижение общей площади земельных угодий с 213,8

до 196,2 млн га, пахотные угодья за годы реформ сократились с 131,8 до 115,1 млн га, а площадь кормовых угодий (сенокосов и пастбищ) — с 80,1 до 75,5 млн га.

Проведенная оценка традиционной системы ведения земледелия показала, что даже с приложением к ней последних достижений сельскохозяйственной науки и практики аграрии уже не могут кардинально решить проблему, связанную с повышением эффективности производства отрасли. В связи с этим необходимо выработать механизм, учитывающий влияние экономических, инновационных, социальных, экологических, рекреационных, национально-культурных и иных факторов, в том числе реализуемых посредством создания зональных агроэкокластеров.

Формирование и развитие сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции, должно отвечать следующим системным императивам:

- разработка концепции развития сельскохозяйственного производства органической продукции;
- параллельное ведение органического и индустриального сельскохозяйственного производства;
- механизм перехода сельского хозяйства к производству органической продукции;
- формирование зональных агроэкокластеров;
- государственное регулирование сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции, посредством целевых программ развития.

Формирование системы ведения органического сельского хозяйства не означает отказ от индустриального сельскохозяйственного производства. По нашему мнению, и органическая, и индустриальная системы ведения земледелия могут эффективно функционировать параллельно друг другу, постепенно трансформируясь в такую аграрную технологию, которая сможет удовлетворить текущие и предполагаемые потребности населения в качественной экологически безопасной продукции.

В сложившихся условиях развития российского АПК можно выделить ряд причин, замедляющих развитие сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции: отсутствие интереса к принципам органического производства со стороны руководителей сельскохозяйственных организаций, что часто обусловлено их консерватизмом к нововведениям, недостатком необходимой информации; трудности с инвестированием ориентированных на органическое производство проектов в АПК; отсутствие рынка сбыта органической продукции; недостаток квалифицированных специалистов в области органического землепользования и сертификации органической продукции.

Для отечественной экономики, где около 27% численности населения проживают в сельской местности и более 12% населения в трудоспособном возрасте занято в сфере сельскохозяйственного производства, формирование и развитие сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции, позволит решить не только проблемы экологической безопасности продуктов питания и окружающей природной среды, но также и социальные проблемы сельских территорий посредством повышения уровня занятости сельских жителей.

Принимая во внимание ресурсосберегающую направленность сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции, система управления процессом землепользования будет выступать в качестве подсистемы общепроизводственной системы управления сельскохозяйственной организации. Основной целью данной подсистемы выступает гармонизация целей и задач сельскохозяйственного производства органической продукции с финансовым результатом

деятельности организации, т.е. рационально используемые ресурсы должны приносить максимальную выгоду.

По нашему мнению, обеспечить постепенный переход к принципам органического сельскохозяйственного производства и повысить конкурентоспособность российских сельскохозяйственных товаропроизводителей органической продукции представляется возможным при организации в сельскохозяйственных регионах страны локальных аграрно-научно-инновационных формирований (кластеров), ориентированных на производство, переработку, хранение и реализацию экологической продукции АПК, к которым предлагаем применить термин «*зональный агроэкокластер*».

Опираясь на общие трактовки, мы определяем «зональный агроэкокластер» как локальное аграрное, экологически ориентированное научно-инновационное, интеграционное формирование, включающее в себя сельскохозяйственные производственные, перерабатывающие и сбытовые организации, научную и учебно-производственную базу региональных научных центров и вузов, маркетинго-аналитический, лабораторно-сертификационный, туристско-рекреационный, культурно-просветительский секторы, выставочный центр, развитую инфраструктуру логистики и хранения.

В отличие от традиционных кластерных сетецентрических структур в проекте зонального агроэкокластера обосновано создание лабораторно-сертификационного, туристско-рекреационного и эколого-культурно-просветительского секторов. Аргументирована целесообразность проведения «зонтичной сертификации» производимой органической продукции и производственных систем агроэкокластера.

В зональных агроэкокластерах объединяются в единый цикл все процессы, связанные с планированием, научным обоснованием, производством, переработкой, хранением, реализацией, сертификацией экологической продукции АПК, т.е. от момента зарождения бизнес-идеи до ее воплощения в конечный продукт. Зональный подход к формированию агроэкокластеров обусловлен значительным различием отдельных территорий регионов по природно-климатическому потенциалу, почвенному плодородию, плотности населения, уровню развития инфраструктуры, дорожно-транспортной доступности, наличию рынков сбыта продукции, а также туристическому и рекреационному потенциалам данной местности. Формирование зональных агроэкокластеров, по нашему мнению, имеет особую значимость для развития экономики агропромышленного региона и привлечения инвестиционных ресурсов в сферу АПК.

Формирование и развитие сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции, на основе вовлечения в оборот залежных и неиспользуемых земельных ресурсов, представляется возможным посредством продвижения органических агротехнологий, альтернативных методов земледелия и аграрных инноваций через систему сельскохозяйственных информационно-консультационных центров, организацию презентаций органической продукции, проведение рекламных кампаний, участие в выставках-ярмарках на региональном и российском уровнях.

Значимая роль в направлении эффективности производства органической продукции сельского хозяйства должна быть отведена разработке государственных программ поддержки сельскохозяйственных организаций, ориентированных на производство органической продукции. Реализация региональных целевых программ позволяет повысить эффективность производства в отдельных сегментах ее целевой направленности за счет адресной поддержки получателей субсидий и постоянного контроля со стороны уполномоченных органов за рациональным и целевым использованием предоставленных бюджетных средств.

В связи с увеличивающимся ростом объемов потребления органической продукции в экономически развитых странах Евросоюза, Северной Америки и Азии, а также учитывая ограниченность земельных ресурсов, пригодных для ведения органического землепользования в этих странах, отечественное АПК со своим значительным потенциалом в увеличении посевных площадей, пригодных для органического земледелия, наличием трудовых ресурсов в сельской местности может занять свою нишу на мировых рынках органического продовольствия. Считаем, что стратегическое развитие сельского хозяйства, ориентированного на производство органической продукции, позволит решить важную народно-хозяйственную проблему обеспечения продовольственной безопасности государства, насыщения внутреннего рынка качественными экологически безопасными продуктами отечественных сельскохозяйственных товаропроизводителей, развития сельских территорий.

Библиографический список:

Воронкова О.Ю. Развитие земельных отношений в направлении экологизации агропромышленного производства : монография. Барнаул, 2014. 155 с.

Воронкова О.Ю. Стратегия развития органически ориентированного регионального агропромышленного производства : монография. Барнаул, 2014. 146 с.

УДК 582.951.4

Д.А. Дурникин, О.К. Таварткиладзе, К.Ю. Гусева, Е.П. Мякишева

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

ОСОБЕННОСТИ КЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSU* L.) СОРТА РЕД СКАРЛЕТТ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Подобраны оптимальные условия клубнеобразования картофеля сорта Скарлетт. Количество образующихся клубней повышается при добавлении в культуральную среду 5% раствора сахарозы в сочетании с НУК и кинетином в определенных соотношениях. Установлено влияние генотипа сомаклонов на клубнеобразование *in vitro*.

***Ключевые слова**:* влияние, регулятор роста, культура *in vitro*, картофель, клубнеобразование, микроклубни, каллусные культуры.

D.A. Durnikin, O.C. Tavartkiladze, K.Yu. Guseva, E.P. Myakisheva

Altai State University (Barnaul, Russia)

FEATURES TUBEROSUM TUBER (*SOLANUM TUBEROSU* L.) VARIATIO RED SCARLETT CULTURA *IN VITRO*

Optimal conditionibus TUBEROSUM tuber varietates Scarlett. Numerum ficos producitur auget praeter culturae medium 5% of sucrose cumulative cum NAA kinetin et in quibusdam componitur. Effectum drogas in somaclones nodulation *in vitro*.

Key words: ponerentur, incrementum ordinator, culturae *in vitro*, potatoes, tubers, microtubers, callus culturas.

Картофель — многолетние клубненосные виды рода *Solanum* семейства пасленовых (*Solanaceae*). Насчитывают около 200 видов, произрастающих преимущественно в Южной и Центральной Америке. В культуре используют в основном два близких вида: картофель андийский (*S. andigenum*), и картофель чилийский, или клубненосный (*S. tuberosum*), широко распространенный (как однолетняя культура) в странах с умеренным климатом.

Картофель является важным источником крахмала и растительного белка, а также клубни содержат около 1% минеральных солей и являются источником витаминов С, B_1, B_2, B_6, РР, К и каротиноидов. В связи с этим он входит в число основных продуктов питания для значительной части населения [Дерябин, Юрьева, 2001].

Сорта картофеля различаются не только по вкусу, цвету, форме клубней и по скорости созревания (ранние, среднеранние, среднеспелые, среднепоздние и поздние сорта), но и по устойчивости к болезням и вредителям. Разные сорта имеют оптимум роста при разных температурах и увлажненности. При создании новых сортов, которое идет постоянно, предпочтение отдается сортам с более оптимальными характеристиками для данного региона, что является очень важной задачей. В этом немаловажную роль могут сыграть методы биотехнологии.

В настоящее время в биотехнологии разработаны методы, основанные на способности культивируемых клеток в условиях *in vitro* переходить к программе развития, при которой из соматической клетки возникает целое растение-регенерант, способное к активному росту и развитию. Многие регенеранты картофеля представляют собой соматические варианты исходного растения, генетическая вариативность которых составляет 58–70% [Крылова и др., 2000; Чекмарев, 2006; Лапшинов и др., 2007; Силаева, Степанов, 2007]. Поэтому сомаклональная изменчивость регенерантов в условиях *in vitro* позволяет создать достаточное генетическое многообразие для селекционной работы [Яшина, 1994; Дейнеко и др., 1997; Смоленская, 2000; Фоменко и др., 2003]. С помощью методов биотехнологии можно вести селекционную работу в лаборатории круглый год, планировать выпуск растений к определенному сроку и в необходимых для производства объемах.

Клубнеобразование — это морфофизиологический процесс, который является генетически детерминированным, возникшим в ходе приспособительной эволюции.

У большинства видов и форм клубнеобразующих растений в геноме закрепилась короткодневная реакция клубнеобразования, поэтому для индукции процесса необходим короткий день. Инициация и рост клубней — это генотипически детерминированный процесс, проявляющийся даже в условиях *in vitro* [Давлятназарова и др., 2005].

Регенераты, полученные из культуры столонов, обладают значительно более высокими темпами микроклубнеобразования и свободны от вирусов и патогенов [Карсункина и др., 1998].

В теоретическом плане представляет интерес изучение степени сортовой вариабельности и физиологических процессов в культуре *in vitro* с целью разработки методов микроклонального размножения и микроклубнеобразования картофеля.

Вместе с тем отмечают, что вопрос о конкретных путях действия регуляторов роста и углеводов и их взаимодействии в процессе инициации клубнеобразования остается открытым, так как имеющиеся результаты не всегда можно интерпретировать однозначно [Давлятназарова и др., 2004]. Так, для перехода регенерантов к клубнеобразованию *in vitro* необходимо наличие высокой концентрации сахарозы (5–10%), но есть сведения о том, что сахароза мало влияет на эти процессы. Также много неясного относительно роли регуляторов роста в инициации клубней. Многие авторы отмечают, что высокое содержание сахарозы в культуральной среде является основным условием инициации клубней. При низких же концентрациях сахарозы (2%) в среде культивирования инициации клубней не происходило. При концентрации сахарозы 5% наблюдалось формирование одиночных клубней. При повышении содержания сахарозы до 10% инициация образования клубней была небольшой [Давлятназарова и др., 2004, Мирзохонова и др., 2005]. По другим данным, оптимальным является использование 5% сахарозы [Alix, 2005].

Проводились исследования по культивированию растений картофеля в условиях электростатического поля. Было выявлено, что данное воздействие повлияло на содержание гормонов в апикальной и базальной зонах побега, но не изменило направление градиентов регуляторов роста, оказав при этом влияние на их величину. Эти изменения были генетически детерминированными. Электростатическое поле, способствуя оптимизации гормонального статуса растений, очевидно, активирует адаптивные процессы к стрессам, которые неизбежно испытывают пробирочные растения в условиях *in vitro* (малый объем корнеобитаемой и воздушной среды в пробирке, недостаточное освещение и др.), поэтому при последующих технологических процессах, связанных с пересадкой растений в полевые условия, растения-регенеранты после подобного воздействия, оказываются наиболее продуктивными по количеству и качеству семенных клубней [Третьяков и др., 2006]. Показано, что гиббереллины способствуют росту столонов, но ингибируют формирование клубней [Коновалова, 2003]. Добавление ИУК в сочетании с Кн не стимулирует процесс инициации роста клубней [Давлятназарова и др., 2005; Сафонова, 2007].

Различия в индукции столоно- и клубнеобразования имеют сортовую зависимость. Высота растений не превышала 10–15 см, причем во все периоды выращивания столоновых растений. Наблюдения снимали через 70 суток после начала индуцирования микроклубней.

Число образовавшихся микроклубней на каждом пробирочном растении было в среднем 1–2. Они были правильной овальной формы.

Проводили наблюдения за образованием микроклубней картофеля сорта Скарлетт. Клубнеобразование сомаклонов проявляло зависимость от варианта питательной среды, на которой был индуцирован каллус. Выявлено, что у растений-регенерантов, полученных от каллуса на среде №1 (0-пассаж), образование микроклубней происходило на всех средах для клубнеобразования (рис. 1). Так, у растений-регенерантов, культивируемых из каллуса на среде №2, образование микроклубней происходило только на среде для клубнеобразования №1.

Растения-регенераты, полученные от каллуса на среде №3, дали следующие результаты: сначала наблюдалось увеличение клубнеобразования (среда №1) с большим количеством образовавшихся клубней на среде №2 и последующим снижением их количества на среде №3.

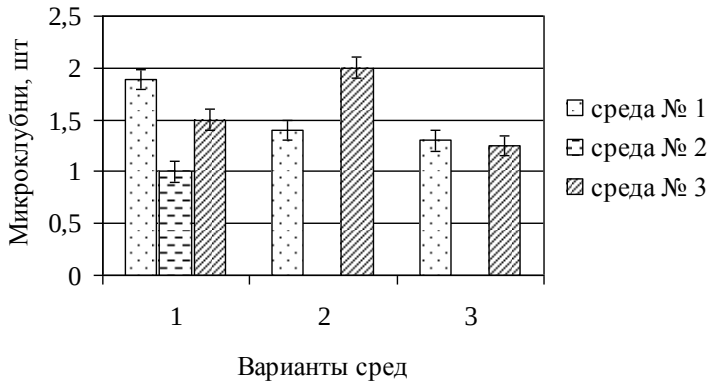


Рис. 1. Интенсивность образования микроклубней у регенерантов картофеля сорта Скарлетт на средах для клубнеобразования:

1 — МС + 5% сахарозы + 0, 5 мкМ НУК; 2 — МС + 5% сахарозы + 5 мкМ НУК + + 2,5 мкМ КN; 3 — МС + 5% сахарозы + 5 мкМ НУК

Питательные среды 0-пассажа для индукции каллусогенеза:
среда №1 — МС + БАП 20 мкМ + НУК 0,2 мкМ;

среда №2 — МС + БАП 10 мкМ + НУК 1 мкМ;
среда №3 — МС + БАП 0,2 мкМ + НУК 1мкМ.

Таким образом, было установлено, что при использовании среды №1 для индукции клубнеобразования для картофеля сорта Скарлетт с концентрацией 0,5 мкМ НУК и среды №2 с концентрациями регуляторов роста — 5 мкМ НУК и 2,5 мкМ KN количество образующихся клубней повышается. Причем растения-регенеранты были получены из каллусных культур на питательных средах №1 и 2.

Микроклубни картофеля сорта Скарлетт по морфологии одинаковы (рис. 2).

1 2 3

Рис. 2. Микроклубни картофеля сорта Скарлетт на средах для клубнеобразования:

1 — МС + 5% сахарозы + 0, 5 мкМ НУК; 2 — МС + 5% сахарозы + 5 мкМ НУК + 2,5 KN; 3 — МС + 5% сахарозы + 5 мкМ НУК

Подобраны оптимальные условия клубнеобразования картофеля сорта Скарлетт. Количество образующихся клубней повышается при добавлении в культуральную среду 5% раствора сахарозы в сочетании с НУК и кинетином в определенных соотношениях.

Таким образом, среды №1 и 2 можно использовать для получения микроклубней картофеля сорта Ред Скарлетт в системе *in vitro*. Установлено влияние генотипа сомаклонов на клубнеобразование *in vitro*.

Библиографический список

Давлятназарова З.Б., Мирзохонова Г.О., Назарова Н.Н., Алиев К.А. Образование столонов и микроклубней картофеля в зависимости от сроков посадки *in vitro* / // Докл. АН РТ. 2004. №11–12. С. 92–101.

Давлятназарова З.Б., Мирзохонова Г.О., Назарова Н.Н., Алиев К.А. Регуляция клубнеобразования у различных генотипов картофеля *in vitro* // Экономика и наука Горно-Бадахшанской автономной области: прошлое, настоящее, будущее : материалы симпозиума. Хорог, 2005. С. 187–189.

Дейнеко Е.В., Цевелева О.Н., Пельтек С.Е., Бабенко В.Н., Сидорчюк Ю.В., Шумный В.К. Сомаклональная изменчивость морфологических и биохимических признаков у растений-регенератов люцерны // Физиология растений. 1997. Т. 44, №5. С. 775–781.

Дерябин А.Н., Юрьева Н.О. Периодичность этапов клубнеобразования у картофеля *in vitro* // Докл. РАСХН. 2001. Т. 3, №3. С. 6–8.

Карсункина Н.П., Скоробогатова И.В., Захарова Е.В. Особенности баланса клубней сорта картофеля по гормональному статусу и его сомаклонов в различном физиологическом состоянии / Моск. сельскохоз. академия им. К.А. Тимирязева. М., 1998. С. 165–178.

Коновалова Г.И. Влияние состава питательной среды на и развитие картофеля в культуре *in vitro* // Актуальные проблемы генетики : материалы 2-й конференции Московского общества генетиков и селекционеров им. И.И. Вавилова. М., 2003. Т. 2. С. 144–146.

Крылова О.В., Личко Н.М., Анисимов Б.В., Анисимова Г.Л., Анишев Х.Х. Технологические свойства различных сортов картофеля при выращивании в условиях Нечерноземной зоны // Известия ТСХА. 2000. №4. С. 52–75.

Лапшинов И.А., Куликова В.И., Аношкина Л.С. Селекция и семеноводство картофеля в Кузбассе // Достижения науки и техники АПК. 2007. №12. С. 42–44.

Мирзохонова Г.О., Назарова Н.Н., Давлятназарова З.Б., Каримов Б.К., Алиев К.А. Гормональная регуляция инициации и роста клубней регенерантов картофеля *in vitro* // Известия АН РТ. 2005. №3–4. С. 45–51.

Сафонова А.Д., Салмина И.С. Основные результаты и перспективы селекции картофеля в лесостепи Приобья // Достижения науки и техники АПК. 2007. №12. С. 21–24.

Силаева Л., Степанов Р. Улучшение системы семеноводства картофеля // Международный сельскохозяйственный журнал. 2007. №6. С. 56–57.

Смоленская С.Э. Изучение морфогенетических реакций в культуре каллусной ткани диких видов и гибридов картофеля // Задачи селекции и пути их решения в Сибири : доклады и сообщения генетико-селекционной школы 19–23 апреля 1999. Новосибирск, 2000. С. 307–308.

Третьяков Н.Н., Пузина Т.И., Сувд Ч. Влияние электростатических полей на регенерационные процессы и гормональную систему картофеля в условиях *in vitro* // Известия ТСХА. 2006. №2. С. 84–96.

Фоменко Т.И., Кондрацкая И.П., Чумакова И.М., Бердичевец Л.Г., Володько И.Ф. Характеристика регенерантов и сортов картофеля при длительном культивировании *in vitro* // Физиология растений. 2003. Т. 32, №4. С. 103–105.

Чекмарев П.А. Урожайность картофеля различных групп скороспелости в зависимости от срока посадки // Достижения науки и техники АПК. 2006. №11. С. 28–29.

Яшина И.А. Перспективы использования метода культуры клеток и тканей в селекции картофеля // Биотехнология. 1994. №5. С. 19–21.

Alix M.I., Sawides S., Blake I., Hernung R.Effekts of illumination source, culture ventilation and sucrose on potato (*S. tuberosum*) mikrotuber production under short daus // Влияние источника освещения, вентилирования культуры и сахарозы на продуцирование микроклубней картофеля (*S. tuberosum*) в условиях короткого дня : материалы Междун. науч. конф. 15–19 августа 2001 г. Минск, 2005. С. 175–187.

УДК 581:633.11

О.В. Ерещенко[1], Л.П. Хлебова[1], М.А. Розова[2]

[1]Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

[2]Алтайский научно-исследовательский институт сельского хозяйства (Барнаул, Россия)

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЯРОВОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОГО СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Изучен процесс каллусо- и морфогенеза 6 генотипов яровой твердой пшеницы, различающихся по устойчивости к засухе, в культуре незрелых зародышей *in vitro*. Проведена оценка регенерационной способности морфогенных клеточных линий. Генотипы твердой пшеницы с высокой полевой засухоустойчивостью обладают наиболее высоким регенерационным потенциалом в условиях осмотического стресса *in vitro*, что делает возможным скрининг генотипов на засухоустойчивость в культуре ткани.

Ключевые слова: твердая пшеница, засухоустойчивость, незрелые зародыши, селективная среда, каллус, морфогенез, регенерация.

O.V. Ereschenko[1], L.P. Khlebova[1], M.A. Rozova[2]
[1]Altai State University (Barnaul, Russia)
[2] Altai Research Institute of Agriculture (Barnaul, Russia)

EVALUATION OF SPRING DURUM WHEAT REGENERATION POTENTIAL TO CREATE A DROUGHT-RESISTANT SELECTION MATERIAL

Callus induction and morphogenesis from immature embryos of 6 spring durum wheat genotypes differing for drought resistance were studied. The regeneration capacity of morphogenic cell lines was evaluated. Durum wheat genotypes with high field drought resistance revealed the highest regeneration potential under *in vitro* simulated osmotic stress. The protocol can effectively be used for in tissue culture screening of genotypes for drought tolerance.

Key words: durum wheat, drought resistance, immature embryos, selection medium, callus, morphogenesis, regeneration.

Алтайский край является крупнейшим производителем высококачественного зерна твердой пшеницы на востоке России. Основные площади ее возделывания сосредоточены в Рубцовско-Алейской степи с прилегающими к ней территориями предгорной зоны, Приобской лесостепи и частично в районах Кулундинской степи. Все они значительно различаются по уровню увлажнения и плодородию почв. В связи с этим направления селекции твердой пшеницы для этих районов носят многоплановый характер. Однако создание адаптивных к почвенной и воздушной засухе сортов всегда определялось в качестве стратегической задачи для алтайских селекционеров [Коробейников, 2005, с. 352].

Для создания стрессоустойчивых сортов необходимы оценка и отбор генотипов, пригодных для дальнейшей селекции. Прямая оценка засухоустойчивости в поле при всей ее объективности требует многолетних наблюдений. Засуха бывает не каждый год, изменяется и ее характер. Для ускорения селекционного процесса в последнее время все чаще прибегают к лабораторным методам оценки. Одним из таких методов является скрининг селекционного материала на устойчивость к неблагоприятным факторам среды в культуре ткани. В ряде исследований показана связь между полевой засухоустойчивостью растений и реакциями клеточных систем *in vitro* [Росеев, 2001, с. 3; Ступко и др., 2008, с. 20–23; Ерещенко и др., 2014, с. 220–224]. Целью настоящей работы являлась оценка регенерационного потенциала яровой твердой пшеницы в экспериментальных модельных условиях имитирующих засуху в культуре *in vitro*.

Объектами исследования служили 6 генотипов яровой твердой пшеницы различного эколого-географического происхождения. Образцы различаются по устойчивости к недостатку влаги: засухоустойчивые — сорт Оазис и линия Г-752; среднеустойчивые — Памяти Янченко, 1480-Д; линии с низкой устойчивостью — 12S1-14, 12S2-24.

В качестве эксплантов использовали незрелые зародыши, изолированные на 15–17-й день после опыления. Выделенные зародыши помещали щитком вверх на питательную среду по прописи Линсмайера — Скуга, содержащую 0,8% агара, 3% сахарозы, 2 мг/л 2,4-Д. Клеточные культуры выращивали в темноте при температуре 26±1 °С. Для имитации дефицита влаги был использован хлорид натрия с концентрацией 1,3% [Никитина и др., 2013, с. 98]. Контролем служила среда без селективного агента.

Через 1,5 месяца каллусы были пересажены на среду для регенерации с уменьшенной до 0,5 мг/л концентрацией 2,4-Д и 0,5 мг/л кинетина, далее культивирование осуществлялось на свету при 16-часовом фотопериоде и температуре

20–22 °С. Эксперимент выполнен в четырех повторениях, пассировано около 60 зародышей на генотип. Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010.

Частота каллусообразования в зависимости от генотипа [Григорьева и др., 2006, с. 64–66; Мохамед и др., 2009, с. 21–26] и условий культивирования [Chowdhury at al., 1991, с. 448; Ozgen at al., 1996, с. 457] у пшеницы, как правило, варьирует, поэтому на данном этапе работы нами была изучена отзывчивость генотипов твердой пшеницы в культуре *in vitro.*

В течение первых трех суток культивирования эксплантов на средах без добавления селективного агента лишь у двух образцов — сорт Памяти Янченко и линия 1480-Д — инициировалось единичное образование каллусов — 4,7 и 20,7% соответственно. Массовое каллусообразование наблюдали на 6–7-е сутки культивирования. При этом 2 генотипа (линия 1480-Д и сорт Памяти Янченко) показали максимальный результат образования первичного каллуса (100%), у сорта Оазис и линии 12S1-14 каллусообразование было на уровне 97,7 и 98,0% соответственно, средний результат (90,3%) показала линия 12S2-24, минимум образования клеточных линий — 29,7% наблюдали у генотипа Г-752. Средний показатель данного признака составил 85,9%, что свидетельствует о высокой отзывчивости изучаемых образцов на культивирование *in vitro.* На средах с добавлением селективного агента средний уровень каллусогенеза на 6–7-е сутки составил 2,5%, при этом лишь у сортов Оазис и Памяти Янченко наблюдалось образование первичного каллуса — 2,7 и 12,0% соответственно. Оба образца достоверно отличались от контроля.

Анализ образцов через 1,5 месяца культивирования показал, что осмотический стресс снижал скорость пролиферации каллусных клеток, но не влиял на частоту их индукции. Так, результаты образования первичных каллусов на средах с добавлением хлорида натрия варьировали от 75,0 до 97,0%, составляя в среднем 89,8%, что ниже контрольного среднего показателя на 6% (рис. 1).

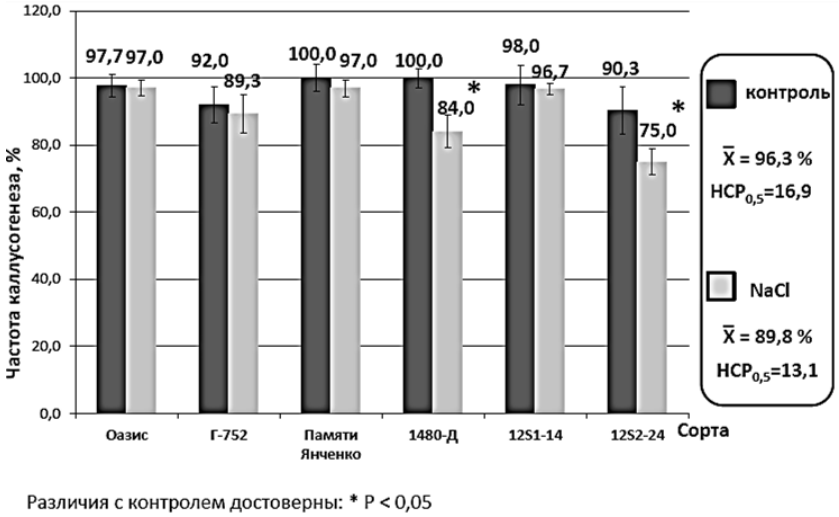


Рис. 1. Частота каллусообразования образцов яровой твердой пшеницы в культуре *in vitro* на 40–42-е сутки культивирования, %

Несмотря на высокий уровень каллусогенеза, качество сформировавшихся клеточных линий может быть различным. Одним из подходов к их классификации является наличие меристематических очагов, что позволяет разделить каллусы на две группы: морфогенные и неморфогенные. В нашем случае интерес представлял первый тип — морфогенные каллусы, поскольку именно они способны сформировать регенеранты.

Изучение частоты морфогенных клеточных линий показало, что в контроле средний уровень данного признака составил 89,6%, существенно варьируя в зависимости от генотипа. На средах с добавлением NaCl средний уровень морфогенеза был ниже контрольного примерно на 2%. Существенно различались с контролем пять образцов яровой твердой пшеницы, и только у линии 1480-Д значения на среде с фактором отбора и без такового — статистически не различались (рис. 2).

Стабильная регенерация является необходимым условием при использовании методов культуры ткани в селекционных целях. На средах без добавления селективного агента уровень признака в среднем составил 149%. Регенерационный потенциал в зависимости от генотипа сильно варьировал. Так, у линий Г-752, 12S2-24 и сорта Памяти Янченко он достаточно высок и изменялся в пределах от 162 до 246%.

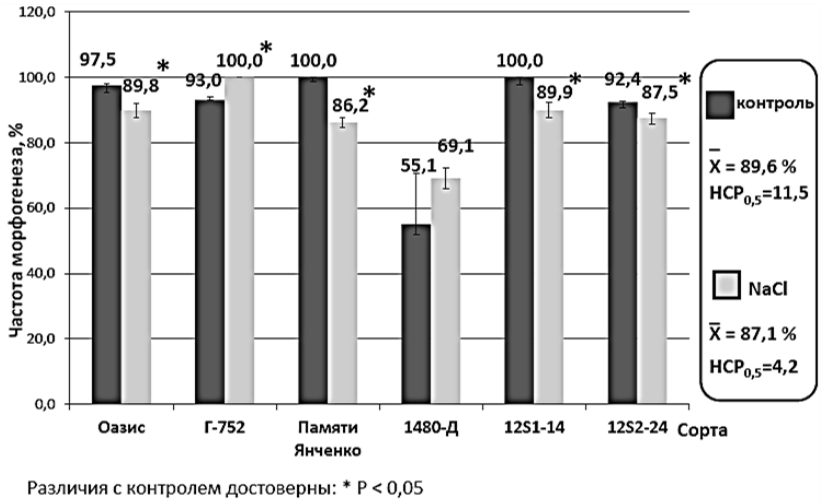


Рис. 2. Частота морфогенеза (от числа каллусов) образцов яровой твердой пшеницы в культуре *in vitro*, %

На средах с добавлением осмотика, несмотря на активный морфогенетический процесс в каллусных тканях, у большинства линий получено незначительное количество регенерантов. Так, средний показатель частоты регенерации составил около 35%. При этом максимальное число регенератов (70,7 и 53,7%) наблюдали у генотипов, обладающих высокой полевой засухоустойчивостью, минимальное — характерно для образцов яровой твердой пшеницы, относящихся к группе со средней и низкой устойчивостью к дефициту влаги (рис. 3).

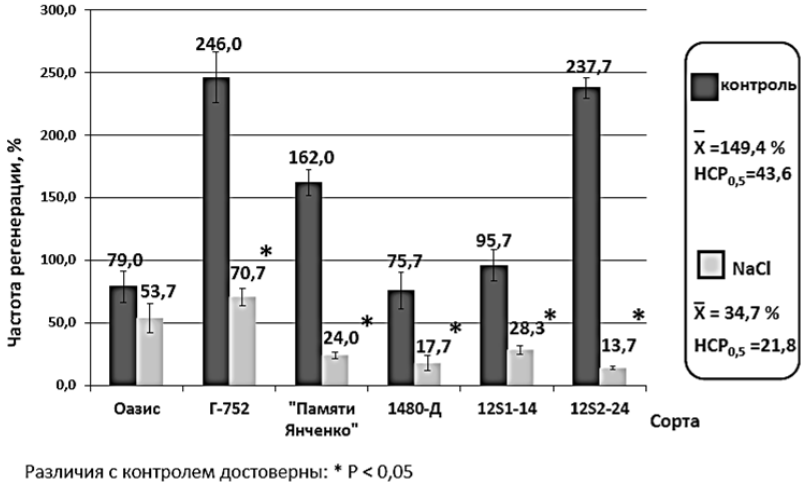


Рис. 3. Частота регенерации (от числа морфогенных каллусов) образцов яровой твердой пшеницы в культуре *in vitro*, %

Таким образом, частота морфогенных клеточных линий изученных образцов яровой твердой пшеницы определялась генотипом. В условиях осмотического стресса *in vitro* происходило снижение индукции морфогенеза. Уровень регенерации определялся как генотипом, так и наличием селективного агента в питательной среде. Сорта и линии яровой твердой пшеницы с высокой полевой засухоустойчивостью обнаружили в условиях индуцированного осмотического стресса наиболее высокий регенерационный потенциал, что дает возможность проводить в культуре *in vitro* оценку генотипов по данному признаку.

Библиографический список

Григорьева Л.П., Шлецер И.А. Скрининг сортов пшеницы по способности к морфогенезу в культуре незрелых зародышей in vitro // Известия Алт. гос. ун-та. 2006. №3/2. С. 64–66.

Ерещенко О.В., Никитина Е.Д., Хлебова Л.П. Оценка эффективности различных схем клеточной селекции яровой пшеницы на устойчивость к осмотическим стрессам // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности : материалы VII Всерос. науч.-практ. конф. Бийск, 2014. С. 220–224.

Коробейников Н.И., Янченко В.И. Основные направления и результаты селекции сельскохозяйственных культур в Алтайском селекцентре // Вестник ВОГиС. 2005. Т. 9, №3. С. 348–356.

Мохамед С.Е., Соловьева А.И., Долгих Ю.И. Оценка биотехнологического потенциала различных сортов пшеницы // Вестник РУДН. Серия : Агрономия и животноводство. 2009. №4. С. 21–26.

Никитина Е.Д., Хлебова Л.П., Соколова Г.Г., Ерещенко О.В. Создание стрессоустойчивого материала яровой мягкой пшеницы с использованием клеточной селекции *in vitro* // Известия Алт. гос. ун-та. 2013. №3/2. С. 95–98.

Россеев В.М. Реакции клеточных систем зерновых культур in vitro и биотестирование селекционного материала на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам среды : автореф. дис. … канд. с.-х. наук. Омск, 2001. 16 с.

Ступко В.Ю., Зобова Н.В., Сурин Н.А. Подбор условий для создания в культуре in vitro стрессоустойчивых форм мягкой яровой пшеницы // Растениеводство и селекция. 2008. №6. С. 20–26.

Chowdhury S.H., Kato K., Yamamoto Y., Hayashi K. Varietal variation in plant regeneration capacity from immature embryos among common wheat cultivars // Japan J. Breed. 1991. V. 41. P. 443–450.

Ozgen M., Turet M., Ozcan S., Sancak C. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos of winter durum wheat genotypes // Plant Breed. 1996. V. 115. P. 455–458.

УДК 619:636

В.М. Жуков, Н.М. Семенихина

Алтайский государственный аграрный университет (Барнаул, Россия)

О ВНЕДРЕНИИ МАЛАВИТА В ВЕТЕРИНАРНУЮ ПРАКТИКУ

Представлены данные об апробации нового биологически активного вещества, малавита, на нескольких видах животных при заболеваниях различной этиологии. Методы апробации препарата включали клинические и производственные испытания в животноводческих хозяйствах Алтайского края и Амурской области. Применение малавита в производственных условиях при заболеваниях желудочно-кишечного тракта поросят оказало восстановительное действие на морфологию печени и поджелудочной железы. Применение малавита и седимина ягнятам с признаками эндемического зоба

способствует стабилизации иммунного статуса и нормализации щитовидной железы по показателям гормонального фона. Также авторами представлены данные по использованию малавита у лошадей в качестве наружного средства при заболеваниях костно-суставной и мышечной систем. При апробации малавита на курах-несушках отмечено его положительное действие на продуктивность, сохранность и частоту возникновения заболевания органов размножения.

***Ключевые слова**:* биологически активные вещества, адаптогены, биохимические показатели, биохимические показатели, морфологические исследования, органопатология, ягнята, поросята, лошади, куры-несушки.

V.M. Zhukov, N.M. Semenikhina

Altai State Agricultural University (Barnaul, Russia)

THE INTRODUCTION OF MALAVIT IN VETERINARY

The data on the testing of a new biologically active product Malavit in several animals affected by the diseases of different etiology is presented. The methods of the product testing included clinical testing and farm testing on livestock farms of the Altai Region and the Amur Region. The administration of the product under farm conditions at gastrointestinal tract diseases in piglets produced a restorative effect on the morphology of liver and pancreas. The administration of Malavit and Sedimin (Sediminum) to lambs with the signs of hypothyrosis stabilized the immune status and normalized the thyroid gland in terms of endocrine profile indices. The authors also presented some data on external use of Malavit in horses at the diseases of the skeletal and joint system and muscular system. The testing of Malavit in laying hens revealed its positive effect on hen performance, livability and the incidence of reproductive diseases.

Key words: biologically active products, adaptogens, biochemical indices, morphological studies, organopathology, lambs, pigs, horses, laying hens.

Современное животноводство несет большой ущерб от заболеваний, вызванных нарушением оптимальных взаимоотношений организма животных с окружающей средой. Изменив естественные условия обитания животных, человек влияет на их наследственность, продуктивность, жизнеспособность.

В ветеринарии применяются вакцины, сыворотки, антибиотики и масса всевозможных химических препаратов, отражающихся на состоянии здоровья животных. В современных условиях возникла необходимость внедрения в ветеринарную практику природных средств, обладающих биорегулирующими свойствами и не имеющих побочного действия. К таким препаратам нового поколения относится малавит.

Препарат создан по оригинальной «малавит-технологии» и применяется в гуманитарной медицине уже более 20 лет в качестве биологически активного средства, восстанавливающего местный баланс обмена веществ. Исследуемый препарат выпускается в городе Барнауле (автор В.М. Дворников) и включает активные комплексы меди, в том числе минерал малахит, молочную кислоту, ионы серебра, мумие, камедь лиственницы, смолу кедра, почки березы и сосны, кору дуба, каменное масло, чагу, экстракты трав Алтайского региона (аир болотный, бессмертник песчаный, чабрец, девясил высокий, мать-и-мачеха, календула, мята перечная, чистотел, подорожник большой, ромашка аптечная, тысячелистник обыкновенный). Хранится при обычной температуре в течение нескольких лет, не теряя своих биологических свойств.

Компоненты малавита действуют следующим образом: ионы меди активизируют обмен ферментов, оказывают противовоспалительное, ранозаживляющее дей-

ствие. Молочная кислота обладает антисептическими свойствами. Ионы серебра обладают дезинфицирующим, вяжущим, прижигающим свойствами. Мумие, камедь лиственницы и смола кедра оказывают противовоспалительное, антитоксическое, общеукрепляющее действие, усиливают регенеративные процессы. Содержащиеся в чаге и коре дуба дубильные вещества оказывают антисептическое и противовоспалительное действие. Почки березы и сосны проявляют желчегонное и ранозаживляющее действие. Каменное масло обладает противовоспалительным, противоопухолевым, ранозаживляющим, болеутоляющим, иммуностимулирующим, бактерицидным, противовирусным, желчегонным и спазмолитическим действием. Входящие в состав аира болотного терпеноиды обладают бактериостатическим, фунгистическим и противовоспалительным свойствами. Бессмертник песчаный обладает желчегонным, мочегонным и кровоостанавливающим действием. Чабрец содержит эфирные масла, оказывающие антисептическое и фунгицидное действие. Девясил высокий обладает отхаркивающим и улучшающим пищеварение действием. Мать-и-мачеха обладает противовоспалительным и иммуностимулирующим действием. Мята перечная оказывает успокаивающее, спазмолитическое, антисептическое и противовоспалительное действие: содержит ментол, который воздействует на патогенные бактерии в желудочно-кишечном тракте. Календула используется как противовоспалительное средство, которое проявляется в укреплении капилляров, улучшении процессов регенерации за счет усиления местных защитных механизмов, эпителизации, усилении роста грануляций и бактерицидного действия по отношению к стрептококкам, стафилококкам. Входящий в состав чистотела алкалоид сангвинарин обладает противомикробной активностью. Подорожник большой обусловливает антимикробное и ранозаживляющее действие. Ромашка аптечная содержит хамазулен, усиливающий репаративные процессы, снижает аллергические реакции, обладает местноанестезирующим действием. Тысячелистник обыкновенный содержит эфирное масло и хамазулен, которые проявляют противовоспалительное, антиаллергическое и ранозаживляющее действие, активизируют действие фибрина, увеличивается число тромбоцитов в крови. Концентрация вышеперечисленных компонентов не превышает терапевтической, и поэтому малавит не имеет побочного действия.

Цель работы: проанализировать комплексное воздействие компонентов малавита на состояние здоровья поросят, ягнят, лошадей, кур-несушек при неспецифической органопатологии.

Методы апробации малавита включали клинические и производственные испытания в животноводческих хозяйствах Алтайского края и Амурской области. Эксперименты проводили с созданием опытных и контрольных групп животных. Клинические наблюдения за состоянием здоровья животных сопровождались анализом гематологических показателей, макро- и микроморфологическими исследованиями с контролем продуктивности.

В работе можно выделить четыре этапа.

Первым этапом было изучение влияния малавита на морфофункциональное состояние печени и поджелудочной железы при острых расстройствах пищеварения поросят 35–40-дневного возраста, массой 10–13 кг. Установлено, что при неспецифическом гастроэнтерите у больных поросят в печени отмечалась резкая сосудистая реакция, выражающаяся в увеличении диаметров вен. Так диаметр поддольковой вены был увеличен в 2,5 раза по сравнению со здоровыми животными. Диаметр центральной дольковой вены также увеличился в два раза. Междольковые вены расширились в 2,2 раза. Венозное полнокровие сопровождалось артериальной гиперемией, холестазом. Увеличение диаметра эндокринных островков поджелу-

дочной железы у больных животных составило 34,4%. Диаметр кровеносных сосудов увеличился на 57,3%. Размеры ацинусов уменьшились по сравнению со здоровыми животными на 57,7% [Курятова, 2012, с. 59–63].

При использовании малавита перорально с 20 мл воды в количестве 0,25 мл/голову за 30 минут до кормления 3 раза в день у поросят в печени наблюдали достоверное уменьшение диаметра поддольковой вены (на 20,7%), центральной дольковой вены (на 16,1%), междольковых вен (на 26,7%). Диаметр артерий триад и желчных протоков снизился соответственно на 26,7 и 32,7%.

В поджелудочной железе также отмечались процессы оптимизации структуры эндокринных островков и диаметра кровеносных сосудов. Применение малавита совместно с пробиотиком ветомом 3 оказало еще более выраженное противовоспалительное действие в печени и поджелудочной железе. Улучшаются и морфологические показатели крови у опытных животных. Отмечено существенное снижение частоты возникновения гастроэнтерита у поросят (до 90–95%) [Пашин, 2012, с. 70–74].

Таким образом, применение малавита в производственных условиях при заболеваниях желудочно-кишечного тракта поросят оказало восстановительное действие на морфологию печени и поджелудочной железы. Совместное применение малавита и ветома-3 показано при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и для нормализации изученных органов.

На втором этапе работы стояла задача испытать малавит в аналогичной первому этапу дозировке в сочетании с седимином у ягнят с признаками эндемического зоба.

У больных новорожденных ягнят щитовидная железа выступала в верхней трети шеи в виде образования длиной 10–12 см и шириной 5–7 см, шерсть была тусклая с аллопециями. У ягнят отсутствовал сосательный рефлекс, они были малоподвижны. Гематологические показатели были на крайних границах нормы.

После применения малавита в сочетании с седимином через месяц щитовидная железа по размерам соответствовала физиологической норме. Одновременно стабилизировались гемопоэз, показатели естественной резистентности и гормональный фон (тироксин, трийодтиронин, тиреотропный гормон гипофиза).

Применение одного седимина сопровождалось уменьшением в объеме щитовидной железы, однако при пальпации ее ощущался перешеек между долями. Гематологические показатели улучшились, однако не настолько, как в группе совместного применения малавита с седимином [Курятова, 2012, с. 79–83].

Таким образом, эксперименты показали высокую лечебную эффективность седимина для повышения естественной резистентности ягнят. Однако его применение в сочетании с малавитом оказалось более результативным, что подтверждается гематологическими показателями, стабилизацией иммунного статуса и нормализацией щитовидной железы по показателям гормонального фона.

На третьем этапе работы были проанализированы исследования по применению малавита у лошадей в качестве наружного средства при заболеваниях костно-суставной и мышечной систем. Наносили препарат на сухожильно-связочный аппарат в области карпального сустава передней конечности сразу после травмы, 2 раза в день. После смачивания малавитом области отека накладывали марлевую салфетку, сверху полиэтилен, затем ватник и заматывали эластичным бинтом на два часа.

Отек спадал после снятия повязки, но затем снова появлялся в течение первых четырех дней. После наложения такого компресса животное хромало меньше, т.е. малавит снимал болевой синдром. Полностью хромота исчезала через две недели применения малавита.

Использовался препарат и для обработки раны на слизистой поверхности ротовой полости лошади при повреждении десны в области передних зубов. Рана была довольно глубокая, отечная, покрасневшая. Препарат применяли путем орошения в разведении 1 : 30 2 раза в день. Затягиваться рана начала уже через 2 дня. Отек уменьшился, покраснение прошло, и через 13 дней рана полностью зажила.

Малавит использовался и при простудных заболеваниях у лошадей. Применяли в комплексном лечении. Носовая полость промывалась малавитом в разведении 20 капель на 100 мл воды. Смазывали препаратом область груди и легких, надевали попону, укутывали и делали ингаляцию с пихтовым маслом. Лошадь вернулась в строй через неделю.

При ушибах запястного сустава лошади малавит наносили без разведения 2 раза в день на область сустава. Было замечено снижение отека уже через 2 дня, и через 5 дней сустав приобрел свою обычную форму. Через 7 дней вернулась эластичность сустава, полностью хромота исчезла на девятый день.

Четвертым этапом работы стала апробация малавита на курах-несушках с целью коррекции органопатологии репродуктивной системы.

Были испытаны три дозировки малавита (1 : 1000, 1 : 5000, 1 : 10000) для выявления оптимальной, при которой наиболее ярко проявлялись положительные изменения в продуктивности и биохимических показателях крови. Эта дозировка составила 1 : 5000 [Жуков, 2014, с. 272–274].

Было установлено, что выпаивание курам-несушкам в возрасте 300 дней водного раствора малавита в концентрации 1 : 5000 в течение 10 дней с повтором курса через 20 дней способствует снижению частоты возникновения заболеваний репродуктивной системы в 1,6 раза, повышению сохранности и продуктивности [Семенихина, 2014, с. 111–116].

По результатам биохимических и морфологических показателей крови было отмечено, что малавит стимулирует белковый и витаминно-минеральный обмены в организме птицы, что проявляется достоверным увеличением уровня общего белка в сыворотке крови, а также оптимизацией состава макроэлементов и витамина Е в пределах физиологических границ. Малавит способствует повышению естественной резистентности организма за счет активизации фагоцитоза лейкоцитов, стимулирует эритропоэз, повышая уровень гемоглобина. Было отмечено, что использование малавита способствует улучшению морфофункционального состояния яичника у кур, что проявляется в свою очередь увеличением абсолютной массы органа, а также числом растущих и созревающих фолликулов, количеством ооцитов на единицу площади. Все эти изменения ведут к увеличению продуктивности птицы [Семенихина, 2014].

Таким образом, многофункциональный препарат малавит показал высокую эффективность при целом ряде заболеваний поросят, ягнят, лошадей, кур-несушек. Его применение требует тщательного подбора концентрации препарата, особенно при внутреннем применении. Дальнейшие исследования открывают широкие возможности для внедрения препарата в ветеринарную практику.

Библиографический список

Жуков В.М., Семенихина Н.М. Влияние разных доз малавита на производственные показатели и физиологическое состояние кур-несушек // Аграрная наука — сельскому хозяйству : сборник статей : в 3 кн. / IX Междун. науч.-практ. конф. (5–6 февраля 2014). Барнаул, 2014. Кн. 3. С. 272–274.

Курятова Е.В., Жуков В.М.. Пашин М.А. Коррекция морфометрических показателей панкреобилиарной системы поросят при неспецифическом гастроэнтерите препаратами «Малавит» и «Ветом-3» // Вестник АГАУ. 2012. №1 (87). С. 59–63.

Курятова Е.В., Жуков В.М., Куразеева А.В. Изменения показателей гормонального фона и естественной резистентности при эндемическом зобе ягнят и его коррекция малавитом и седимином // Вестник АГАУ. 2012. №2 (88). С. 79–83.

Пашин М.А. Коррекция клинических и биохимических показателей крови поросят при неспецифическом гастроэнтерите препаратами «Малавит» и «Ветом-3» // Вестник АГАУ. 2012. №3 (89). С. 70–74.

Семенихина Н.М., Жуков В.М. Развитие яичников у кур-несушек под влиянием Малавита // Вестник АГАУ. 2014. №6 (116). С. 111–116.

Семенихина Н.М., Жуков В.М. Диагностика и коррекция органопатологии репродуктивной системы кур-несушек : научные рекомендации. Барнаул, 2014. 24 с.

УДК 606:620.951/.953

Е.В. Захаров[1], Т.Д. Сультимова[1], Д.И. Стом[2]

[1]Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления (Улан-Удэ, Россия)

[2]Иркутский государственный университет (Иркутск, Россия)

ПОЛУЧЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА ИЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОТХОДОВ ПРИ ПОМОЩИ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

Принцип действия микробных топливных элементов основан на анаэробном окислении различных субстратов микроорганизмами с последующей передачей электронов от микроорганизмов на поверхность электрода. Бактерии находятся в анодной камере, там же и субстрат. В катодной камере проводится аэрация для интенсификации процессов восстановления кислорода до воды. Анодная и катодная камеры разделены протонообменной мембраной, которая позволяет протонам из анодной камеры переходить в катодную и в то же время задерживает диффузию кислорода в обратном направлении. Микроорганизмы на поверхности анода либо в жидкой среде камеры окисляют субстрат и передают электроны на поверхность электрода. Так как анод и катод соединены проводником, то из-за возникающей в результате действия микроорганизмов разности потенциалов между электродами начинает протекать электрический ток, что регистрируется измерительной аппаратурой. Предложены методы получения электрического тока при помощи микробного топливного элемента.

Ключевые слова: микробный топливный элемент, биоэнергетика, электричество, «доктор Робик», протоннообменная мембрана, электрод.

E.V. Zakharov[1], T.D. Sultimova[1], D.I. Stom[2]

[1]East-Siberian State University of Technology and Management (Ulan-Ude, Russia)

[2]Irkutsky State University (Irkutsk, Russia)

PREPARATION OF ELECTRICAL CURRENT FROM AGRICULTURAL WASTE USING MICROBIAL FUEL CELL

The principle of operation is based on the MFC the anaerobic oxidation of various substrates by microorganisms with the subsequent transfer of electrons from the microorganisms on the surface of the electrode. Bacteria located in the anode chamber and there is also a substrate. In the cathode chamber aeration is conducted for the intensification of the processes of recovery of oxygen to the water. The anode and cathode chambers are separated by a proton exchange membrane which allows protons to pass from the anode chamber into the cathode and at the same time retains the oxygen diffusion in the reverse direction. Microorganisms at the anode surface or in a liquid medium chamber oxidized substrate and transfer the electrons to the electrode surface (on the electron transfer mechanisms discussed below). Since the anode and the cathode conductor are connected, then

due resulting from the action of microorganisms of the potential difference between the electrodes begins to flow between the electrical current that is registered instrumented. In the article methods of producing electric current using a microbial fuel cell.

Key words: microbial fuel cell, bio-energy, electricity, "Doctor Robic", Proton membrane electrode.

Объектом работы является технология микробных топливных элементов (МТЭ), которая позволяет утилизировать отходы, производя при этом электричество при помощи микроорганизмов, находящихся в экскрементах сельскохозяйственных животных. Разработка конструктивно новых моделей микробных топливных элементов и предложение легкодоступных консорциумов микроорганизмов, способных генерировать в них с высокой эффективностью электроэнергию. Использованный микробный топливный элемент состоит из ячейки, разделенной с помощью протонообменной мембраны на две части, состоящий из оргстекла. Использовалась мембрана МФ-4СК (ОАО «Пластполимер», Санкт-Петербург). В качестве электродов (анод и катод) использовалась углеродная ткань и карбид кремния. Пористая структура электродов увеличивает площадь поверхность взаимодействия микроорганизмов с электродом. В анодной камере поддерживали анаэробные условия. В другой части ячейки — катодной камере, напротив, барботировали воздух. Готовый препарат помещали в анодную камеру. Следует подчеркнуть важность анаэробных условий в анодной камере, так как в противных условиях микроорганизмы в препарате будут использовать в качестве конечного акцептора электронов не электрод анода, а кислород.

1. В анодную камеру микробного топливного элемента приливали кипяченную байкальскую воду и добавляли препарат «Доктор Робик» с экскрементами коровы. В катодной камере находилась кипяченая байкальская вода, анод — из углеродной ткани, катод — карбид кремния. Максимальная ЭДС в контрольной ячейке составляла 300 mV.

2. В анодную камеру микробного топливного элемента приливали кипяченую байкальскую воду без добавления препарата «Доктор Робик» с экскрементами коровы. В катодной камере находилась кипяченая байкальская вода, анод — из углеродной ткани, катод — карбид кремния. Максимальная ЭДС в ячейке составляла до 600 mV в первые двое суток.

3. В анодную камеру микробного топливного элемента приливали кипяченую байкальскую воду с добавлением препарата «Доктор Робик» с экскрементами лошади. В катодной камере находилась кипяченая байкальская вода, при использовании анода из углеродной ткани, катод — карбид кремния. Максимальная ЭДС в ячейке составляла до 200 mV.

4. В анодную камеру микробного топливного элемента приливали кипяченую байкальскую воду без добавления препарата «Доктор Робик» с экскрементами лошади. В катодной камере находилась кипяченная байкальская вода, при использовании анода из углеродной ткани, катод — карбид кремния. Максимальная ЭДС в ячейке составляла до 600 mV в первые двое суток.

5. В качестве контроля использовали микробный топливный элемент, в анодную и катодную камеру которого добавляли только кипяченую байкальскую воду. В течение всего эксперимента существенного роста бактерий в контрольных камерах не фиксировали. Максимальная ЭДС в контрольной ячейке не превышала 33 mV.

Библиографический список

Дебабов В.Г. Производство электричества микроорганизмами (обзор) // Микробиология. 2008. Т. 77, №2.

Potter M. Potential differences due to microorganisms // Tr. Phil Durham University. 1910 V. 3. P. 245–249.

Potter M. Electric effects accompanying the decomposition of organic compounds // Coll. R. Soc. Lond. 1911. V. 84. P. 260–276.

УДК 633.584.3:631.53

Л.П. Ищук, В.В. Мацкевич

Белоцерковский национальный аграрный университет (Белая Церковь, Украина)

РАЗМНОЖЕНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ВИДОВ *SALIX* L. *IN VITRO*

Предложена и отработана методика культуры тканей *in vitro* для массового выращивания посадочного материала ивы прутовидной (*Salix viminalis* L.) и ее гибридного сорта Inger. Установлено, что максимальный коэффициент размножения для *S. viminalis* составляет 4,4, а для ее сорта Inger — 6,2 по концентрации бензиламинопурину 0,2 мг/л. Таким образом, применяя деконтаминант Plant Preservative Mixture и гормон бензиламинопурин, можно достичь в короткие сроки массового размножения *S. viminalis* и ее гибридного сорта Inger для создания энергетических плантаций.

Ключевые слова: *Salix viminalis*, Inger, *in vitro*, ива, экспланты, деконтаминант, гормон, бензиламинопурин.

L.P. Ishchuk, V.V. Mackiewicz

Bila Tserkva national agrarian university (Bila Tserkva, Ukraina)

REPRODUCTION OF ENERGY TYPES OF *SALIX* L. *IN VITRO*

The method proposed and culture woven in vitro for mass cultivation of plant material willow basket (*Salix viminalis* L.) and its hybrid varieties Inger. It was established that the maximum multiplication factor for *S. viminalis* is 4,4, and for its variety Inger — 6,2 per benzylamnopurynu concentration of 0,2 mg/l. Thus, applying the decontaminant Plant Preservative Mixture and hormone benzylaminopurine can be achieved in the short term mass reproduction of *S. viminalis* and its hybrid varieties Inger for the creation of energy plantations.

Key words: *Salix viminalis*, Inger, *in vitro*, willow, eksplanti, decontaminant, hormone, benzylaminopurine.

На Украине фитоэнергетика может стать перспективным направлением развития сельского хозяйства. Для этого есть необходимые почвенно-климатические предпосылки, позволяющие выращивать культуры с высокой вегетативной массой в больших объемах. Развитие биоэнергетических технологий уменьшит зависимость Украины от импортированных энергоносителей, повысит ее энергетическую безопасность за счет организации энергоснабжения на базе местных возобновляемых ресурсов, создаст значительное количество новых рабочих мест, внесет весомый вклад в улучшение экологической ситуации [Энергетическая стратегия Украины до 2030 г.].

Украина имеет большой потенциал развития биоэнергетического плантационного лесовыращивания быстрорастущих древесных пород. Ведь в нашей стране насчитывается около 2 млн га исключенных из сельскохозяйственного пользования земель, которые пригодны для создания таких плантаций [Проскурина, 2011, с. 12–15]. Привлечение биомассы, специально выращенной на землях, что сейчас не используются в сельском хозяйстве, в частности, на землях, подвергшихся радиоактивному загрязнению — 15 ки/км, или используются неэффективно, приведет к повышению доли биомассы в энергетическом балансе страны до 20–25%. При не-

обеспеченности страны собственными энергоносителями и дефиците государственного бюджета создание и развитие биоэнергетических плантаций открывает перед Украиной путь к экономической и энергетической независимости [План действий по биомассе; Энергетическая стратегия Украины до 2030 г.].

На сегодняшний день плантационный способ выращивания древесных пород является общепринятой мировой практикой повышения эффективности лесного хозяйства. Перспективным способом получения такого посадочного материала являются методы биотехнологии. Альтернативным способом получения большого количества посадочного материала за короткий период является метод культуры тканей *in vitro*, который имеет ряд преимуществ по сравнению с культурой ив в открытом грунте. На Украине вопросами размножения ив в культуре *in vitro* занимались О.Ю.Чорнобров и соавторы [Чорнобров и др., 2011], в частности, они исследовали ступенчатую адаптацию растений-регенерантов *S. viminalis* к условиям *in vivo*.

Целью наших исследований была разработка методов для хранения без перезаражения, длительного поддержания в коллекции *in vitro* и быстрого размножения в промышленных объемах посадочного материала *S. viminalis* L. и *S. viminalis* x *S. triandra* L. = Inger. Культивировали *S. viminalis* L. и ее гибрид Inger на питательной безгормональной среде по прописи Мурасига и Скуга в собственной модификации с изменениями в количестве бензиламинопурина, хелатного железа, активированного угля. Экспланты (апикальные меристемы, вегетативные почки и части побегов) культивировали по общепринятой методике [Кушнір, Сарнацька, 2005, с. 32–55]. Дополнительные деконтаминанты испытали на фоне обработки эксплантов гипохлоритом натрия. Эффективность процесса деконтаминации (E_1) определяли [Пат. РФ2324338, 2008, с. 1–7] по количеству неинфицированных эксплантов после стерилизации (c) в процентах к исходному количеству эксплантов, что стерилизовались (s):

$$E_1 = \frac{c}{s}100.$$

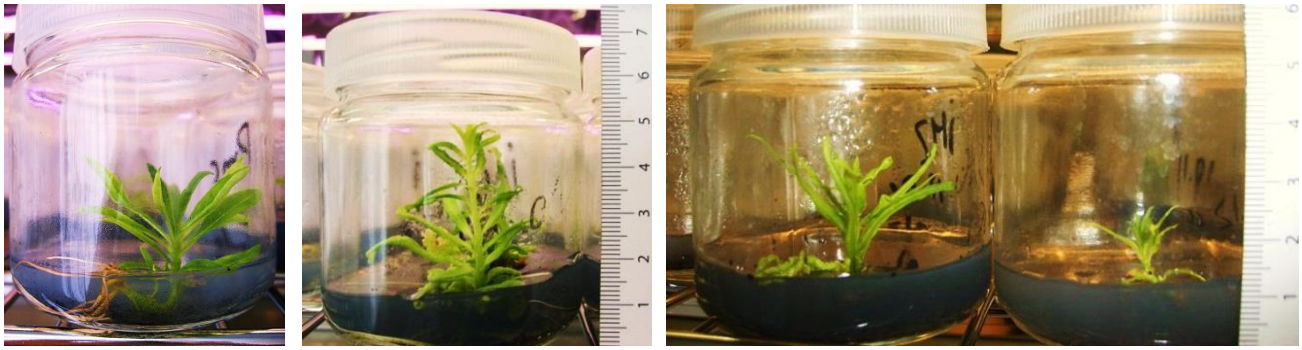
Влияние стерилизующего вещества зависит от его вида и вида растений. Кроме этого, успешное прохождение процесса зависит от плотности и чувствительности тканей, контактирующих с антисептиком. Удачный выбор стерилизующего агента заключается в том, чтобы он был очень активным в отношении всех микроорганизмов и одновременно меньше повреждал ткани растения. Визуально основу контаминантов составляли бактерии. Однако добавление эффективного на других культурах деконтаминанта антибиотика хлорамфеникола [Мацкевич и др., 2012, с. 46–50] оказалось, так же, как и фунгицида Превикур Энерджи 840 SL, малоэффективным (табл.). На сложность деконтаминации влиял вид растения. По всем вариантам деконтаминации ниже эффективность стерилизации была в гибридной ивы сорта Inger. Контроль и все другие варианты, за исключением варианта с применением PPM (PPM — Plant Preservative Mixture) [Miyazaki and other, 2010, p. 365–372], были, по нашему мнению, технологически приемлемыми.

Как известно, основными преимуществами микроклонального размножения являются высокие коэффициенты размножения свободного от возбудителей болезней растений посадочного материала. Основными детерминантами пробуждения пазушных почек являются цитокинины. Диапазон практического использования этих веществ очень узкий, так как у малых концентрациях они не действует, а в больших являются фитотоксичными. Поэтому при введении в культуру *in vitro* нового вида или даже сорта растений возникает производственная необходимость подбора оптимальной концентрации этого гормона [Кушнір, Сарнацька, 2005, с. 46–50].

Влияние концентрации бензиламинопурина на регенерацию растений ивы на 30-й день культивирования

Концентрация, мг/л	Высота регенерантов, мм		Длина корней, мм		Коэффициент размножения		Гипер-гидратованные растения, %	
	сорт 'Inger'	*S. viminalis*	сорт 'Inger'	*S. viminalis*	сорт Inger	S. viminalis	сорт Inger	*S. viminalis*
-	105	49	183	27	3,3	2,8	2	1
0,1	121	50	185	23	5,6	3,1	3	2
0,2	104	41	172	11	6,2	4,4	2	2
0,3	58	36	13	3	3,2	2,9	6	3
0,5	51	19	4	-	2,7	1,8	63	19
1,0	42	20	-	-	1,1	0,6	91	26
2,0	43	11	-	-	0,6	0,3	95	72
$НИР_{0,05}$	7	9	-	-	0,3	0,4	8	5

Для исследуемых нами объектов среди концентраций от 0,1 до 2,0 мг/л оптимальной была в 0,2 мг/л. Меньше концентрация не отличалась от контроля. Для растений было характерно интенсивное корнеобразования (см. табл., рис. 1, *а-в*). А при более высоких концентрациях уменьшались как размеры регенератов, так и коэффициент размножения.



а) б) в)

Рис. 1. Влияние концентрации бензиламинопурина на особенности регенерации эксплантов ивы:
а) сорт 'Inger' без бензиламинопурина; б) сорт 'Inger' при концентрации бензиламинопурина 0,2 мг/л; в) сорт 'Inger' (слева), *S. viminalis* — (справа) при концентрации бензиламинопурина 1,0 мг/л

Высокие концентрации обусловливали появление витрифицированных растений. Как и при перенесении на среду без этого гормона имели типичное для растения состояние (рис. 2).

Следует заметить, что растения, выращенные *in vitro*, отличались от растений, полученных в открытом грунте путем черенкования за анатомическими показателями. В частности, они имели очень тонкую кутикулу, небольшое количество механических тканей, тонкие листья и очень сильно развиты межклетники. Зато проводящие пучки были развиты слабо и щелевые устьица функционировали в них ограничено.

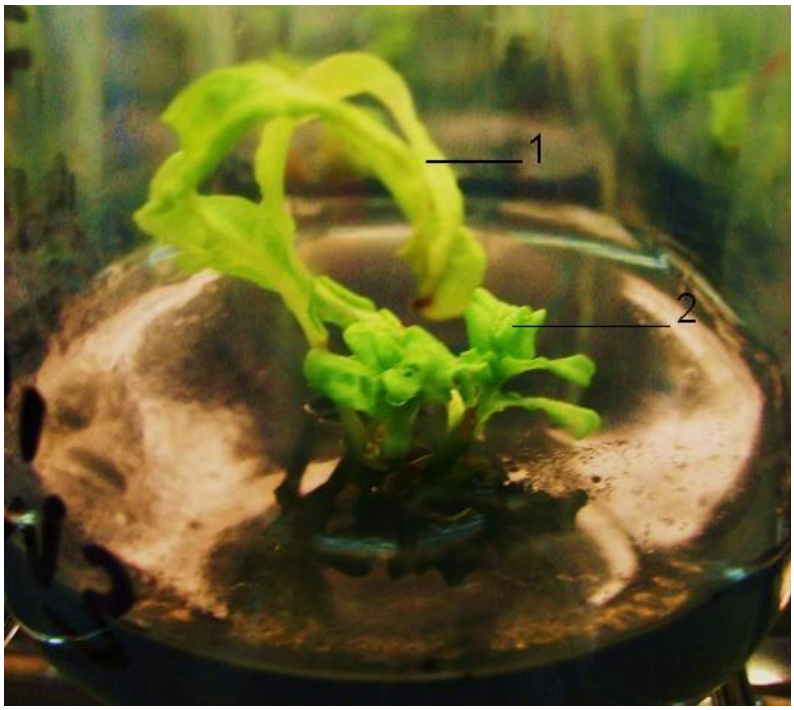


Рис. 2. Восстановление витрифицированных растений на среде без цитокининов: 1 — старые витрифицированные листья; 2 — новообразованные нормальные листья

В результате проведенного эксперимента установлено, что при введении в культуру *in vitro S. viminalis* и ее гибридного сорта 'Inger' стерилизацию целесообразно проводить путем добавления в среду деконтаминанта Plant Preservative Mixture. Интенсивное корнеобразования и максимальный коэффициент размножения для *S. viminalis* составляет 4,4, а для ее сорта 'Inger' — 6,2 при концентрации бензиламинопурина 0,2 мг/л. Таким образом, применяя деконтаминант Plant Preservative Mixture и гормон бензиламинопурин, можно достичь в кратчайшие сроки массового размножения *S. viminalis* и ее гибридного сорта 'Inger' для создания энергетических плантаций.

Библиографический список

Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин: теорія і практика. Київ, 2005. 271 с.

Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Стадник А.П. Особливості введення *in vitro* та клонального мікророзмноження *Hosta* Tratt. // Агроекологічний журнал. 2012. Вип. 4. С. 79–82.

Патент РФ2324338 Способ получения биомасы *in vitro* / М.Э. Ламберова; В.Н. Хмелев; А.А. Ламберова; А.Н. Хмелева; А.С. Косолапова; владелец патента Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова». №2324338; заявл. 25.01.2007 ; опубл. 20.05.2008, Бюл. №14. 7 с.

План действий по биомассе для Украины до 2030 года [Электронный ресурс]. URL: http:// www. biomass.kiev.ua.

Проскурина О.В. Перспективи виробництва і застосування біопалива в Україні // Теоретичні та практичні аспекти економіки та інтелектуальної власності. 2011. №1. С. 12–15.

Чорнобров О.Ю., Клюваденко А.А., Пінчук А.П., Максимчук Н.В., Мельничук М.Д. Видоспецифічні особливості ступінчастої адаптації рослин-регенерантів верби прутовидної (*Salix viminalis* L.) до умов *in vivo* // Наукові доповіді НУБіП. 2011 №6 (28) [Электронный ресурс]. URL: http://www.nbuv.gov.ua/e-journals/Nd/2011_6/11kaa.pdf.

Энергетическая стратегия Украины до 2030 года [Электронный ресурс]. URL: http://www.mpe.kmu.gov.ua/fuel/control/uk/doccatalog/list?currDir=50358.

Miyazaki J., Tan B.H., Errington S.G. Eradication of endophytic bacteria via treatment for axillary buds of Petunia hybrida using Plant Preservative Mixture (PPMTM). PCTOC, 2010. 102(3). P. 365–372.

УДК 631.871

Е.В. Калюта[1], А.В. Бояринцева[1], М.И. Мальцев[1], А.Н. Афаньков[2], В.В. Коньшин[2], О.С. Беушева[2], А.А. Беушев[2], М.В. Вододохова[2]

[1]Алтайский государственный аграрный университет (Барнаул, Россия)

[2]Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ИССЛЕДОВАНИЕ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ДЕРЕВООБРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ В КАЧЕСТВЕ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА ПШЕНИЦЫ

Приведены результаты использования отходов сельскохозяйственного производства и деревообрабатывающей промышленности в качестве ростостимулирующих веществ по отношению к пшенице сорта Омская 36. В работе использованы водные суспензии с концентрациями 0,1–5,0 г/л. Обнаружен эффект ростостимулирования при концентрациях менее 3 г/л.

Ключевые слова: стимуляторы роста, взрывной автогидролиз, углеводы.

E.V. Kalyuta[1], A.V. Boyarinzeva[1], M.I. Malzev[1], A.N. Afankov[2], V.V. Konshin[2], O.S. Beusheva[2], A.A. Beushev[2] M.V. Vododohova[2]

[1]Altai State Agrarian University (Barnaul, Russia)

[2]Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

INVESTIGATION OF AGRICULTURAL WASTE AND WOOD INDUSTRY AS A GROWTH PROMOTER WHEAT

The results of application of agricultural waste and wood processing industry as growth promoting substances to the wheat variety Omsk 36. The paper used aqueous suspensions with concentrations of 0.1–5.0 g/l. The effect rostostimulirovaniya at concentrations of less than 3 g/l.

Key words: growth stimulants, explosive autohydrolysis, carbohydrates.

В настоящее время для реализации потенциала яровой пшеницы, как показывает практика, недостаточно организации минерального питания только макроэлементами первого порядка. Стимуляторы роста и микроудобрения, способные повышать устойчивость растений пшеницы к болезням, стрессам, увеличивающие их продуктивность, приобретают большое значение [Кадыров и др., 2014, с. 55–57].

С целью использования экологически безопасных стимуляторов роста нами предлагается использование отходов сельскохозяйственного производства и деревоперерабатывающей промышленности — оболочек овса посевного и древесной зелени сосны.

Для получения стимуляторов роста первоначально исходный материал измельчали или обрабатывали по методу взрывного автогидролиза (ВАГ). Методика обработки материалов растительного происхождения приведена в работах [Li et al., 2005, p. 175–187; Афаньков и др., 2014, с. 23–25]. Из подготовленного растительного сырья готовили водные суспензии с концентрацией 0,1, 0,5, 1,0, 3,0 и 5,0 г/л и оставляли их на сутки. В качестве контрольного варианта применяли дистилли-

рованную воду. Для исследований использовали зерна мягкой яровой пшеницы сорта Омская 36, которые заливались суспензией соответствующей концентрации. Активность прорастания семян оценивали по длине побега и максимальной длине главного корня на 5-е и 7-е сутки при комнатной температуре.

Результаты исследований влияния препаратов из оболочек овса на длину побега приведены на рисунках 1–4 (здесь и далее по тексту 10 — время выдержки растительного сырья в аппарате ВАГ, 15 — давление перегретого пара в аппарате в атмосферах).

Оказалось, что высокие концентрации водных суспензий не способствуют ростостимулированию растений, и поэтому использование концентрации более 3 г/л нецелесообразно. Наибольший эффект проявился на длине побега в области концентраций 0,1 г/л для оболочки овса, обработанной по методу ВАГ на 5-е и 7-е сутки.

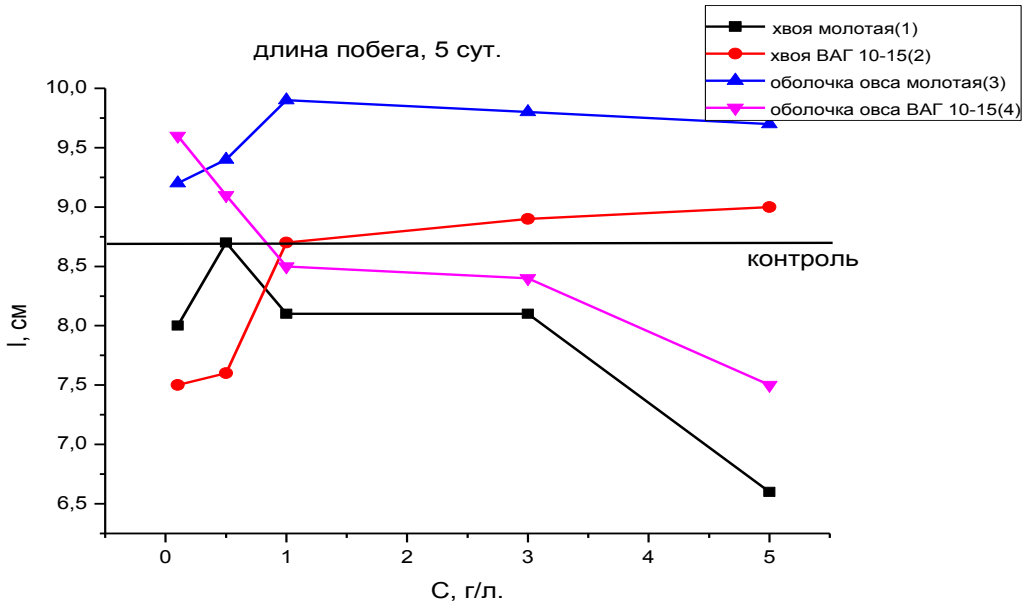


Рис. 1. Влияние вида препарата и его концентрации на длину побега пшеницы на 5-е сутки

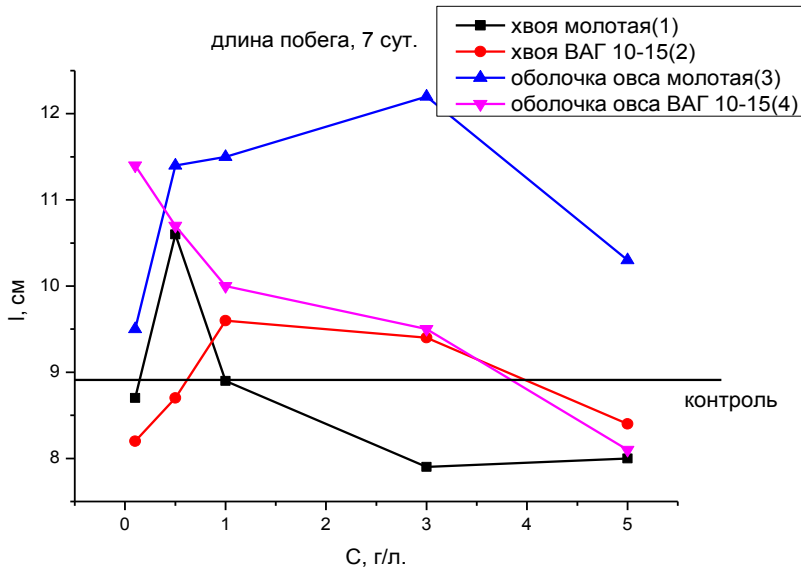


Рис. 2. Влияние вида препарата и его концентрации на длину побега пшеницы на 7-е сутки

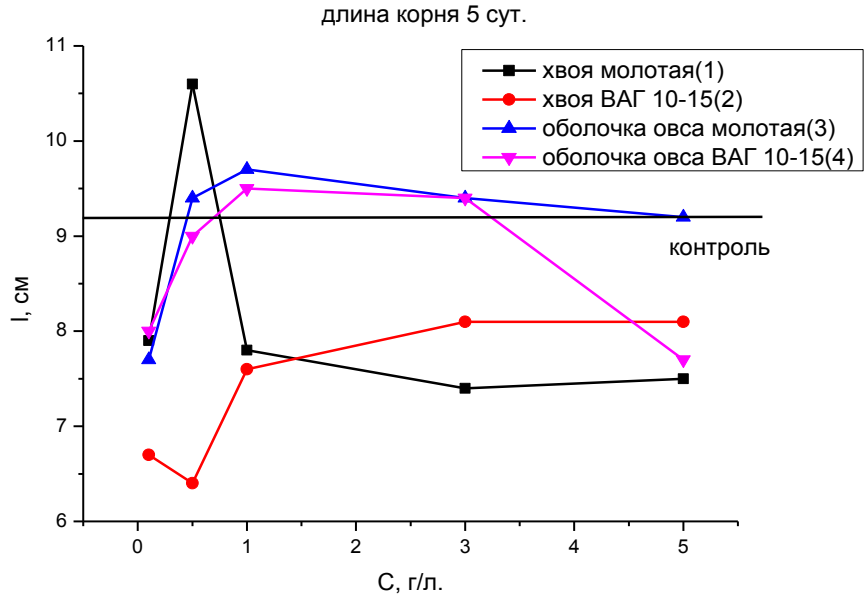


Рис. 3. Влияние вида препарата и его концентрации на длину главного корня пшеницы на 5-е сутки

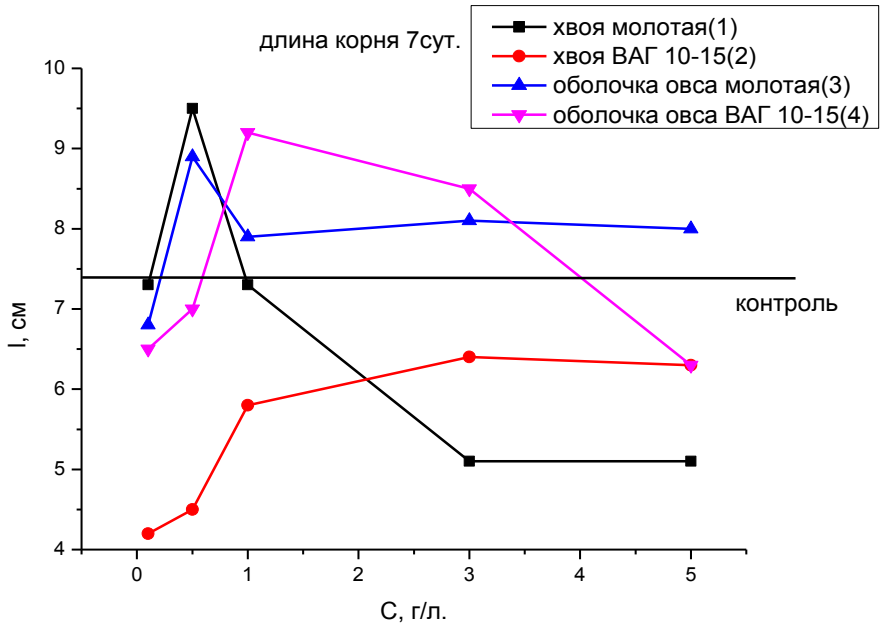


Рис. 4. Влияние вида препарата и его концентрации на длину главного корня пшеницы на 7-е сутки

Мы предполагаем, что различие в действии росторегулирующих препаратов связано с их химическим составом. Ранее проведенные исследования по изучению влияния разных экстрактов тополя бальзамического на урожайность яровой пшеницы показало, что основной группой соединений ростостимулирующих водорастворимых веществ являются углеводы [Калюта и др., 2014, с. 309–312].

В наших исследованиях в качестве веществ, стимулирующих рост растений, выступают легкогидролизуемые полисахариды (углеводы). Наибольшее количество углеводов переходит в раствор при обработке по методу ВАГ. Об этом свидетельствуют данные химического анализа обработанного сырья, представленные в таблице.

При обработке водяным паром растворимость полученной массы увеличивается более чем в два раза за счет растворения легкогидролизуемых полисахаридов и их деструкции. О процессах деструкции свидетельствует появление редуцирующих веществ в растворе. При дальнейшем увеличении концентрации углеводов (в 10 и более раз) в растворе наблюдается эффект ингибирования.

Отсутствие большого количества углеводов в растворе приводит к тому, что ростостимулирующие свойства молотых оболочек овса проявляются при достаточно больших концентрациях — до 3 г/л.

Показатели материалов, полученных из оболочек овса

Материал	Показатели, %		
	растворимость в холодной воде	легкогидролизуемые полисахариды	редуцирующие вещества
Оболочка овса молотая	15,9	48,0	0
Оболочка овса ВАГ 10–15	36,3	23,3	11,4

Проведенные нами исследования позволяют сделать вывод о том, что продукты на основе хвои сосны обладают меньшим ростостимулирующим действием. При этом наибольший эффект проявляется в области концентраций 1–3 г/л. Данный факт меньшим содержанием редуцирующих веществ в продуктах баротермической обработки хвои сосны по сравнению с продуктами баротермической обработки оболочек овса.

Таким образом, на основе проделанной работы можно сделать вывод о том, что продукты переработки оболочек овса и хвои сосны обладают ростостимулирующими свойствами при концентрациях водных суспензий менее 3 г/л.

Библиографический список

Афаньков А.Н., Коньшин В.В., Беушева О.С., Вододохова М.В. Изготовление композиционных плитных материалов из оболочек овса // Международный научно-исследовательский журнал. 2014. №12-1. С. 23–25.

Кадыров С.В., Коновалов Н.Н. Влияние предпосевной и некорневой обработки микроудобрениями и регуляторами роста на урожайность и качество зерна яровой пшеницы // Аграрная Россия. 2008. №4. С. 55–57.

Калюта Е.В., Мальцев М.И., Александрова Т.Н., Шепелева О.В., Исаева Е.В. Изучение влияния экстрактов тополя бальзамического на активность прорастания семян зерновых и зернобобовых культур // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья : материалы V Всерос. конф. / под ред. Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина. Барнаул, 2014. С. 309–312.

Li J., Henriksson G., Gellerstedt G. Carbohydrate Reactions During High-Temperature Steam Treatment of Aspen Wood // Applied Biochemistry and Biotechnology. 2005. V. 125. P. 175–187.

УДК 581.6

Ю.А. Костюкова[1], М.Д. Лебедева[2], Е.А. Гумерова[1], Н.И. Румянцева[1]
[1]Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук (Казань, Россия)
[2]Казанский (Приволжский) федеральный университет (Казань, Россия)

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОГЕННОЙ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *FAGOPYRUM TATARICUM* (L.) GAERTN

Проведенные гистологические исследования морфогенной суспензии показали, что к завершению пассажа (14-й день культивирования) морфогенная суспензионная культура гречихи образована ПЭКК, ЭПС, аномальными соматическими зародышами. Отмечено преобладание ЭПС. Предположительно, индуктором дифференциации ЭПС в суспензионной культуре является снижение в среде культивирования концентрации 2,4-D к концу пассажа. Можно предполагать, что значительное разнообразие дифференцированных структур является основой высокого содержания ФС в суспензионной культуре гречихи татарской.

Ключевые слова: гречиха, суспензионная культура, гистологический анализ.

Yu.A. Kostyukova[1], M.D. Lebedeva[2], E.A. Gumerova[1], N.I. Rumyantseva[1]
[1]Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Science (Kazan, Russia)
[2]Kazan Federal University (Kazan, Russia)

THE HISTOLOGICAL ANALYSIS OF MORPHOGENIC SUSPENTION CULTURE OF *TARTARY BUCKWHEAT* (L.)GAERTN

The histological anaylysis of morphogenic suspension culture of buckwheat demonstrated that suspension culture by the end of cultivation cycle (the 14 day of cultivation) consists of proembryonal cell complexes (PECCs), embryo like structures (ELSs), abnormal somatic embryos. The ELSs was prevailed. We suggest that reduction of 2,4-D in cell culture medium is a inductor of ELS differentiation. It is possible to assume that a considerable variety of the differentiated structures is a basis of the high content of PS in suspension culture of a tartary buckwheat.

Key word: buckwheat, suspension culture, histological analysis.

Гречиха татарская (Fagopyrum tataricum (L) Gaertn) привлекает внимание исследователей в качестве продуцента фенольных соединений, так как в отличие от посевной гречихи плоды татарской гречихи отличаются большим разнообразием синтезируемых ФС с большим содержанием рутина. Ранее нами было показано, что морфогенные суспензионные культуры гречихи синтезируют такие ФС, как рутин, кверцитрин, эпикатехин, феруловую и *n*-кумаровую кислоты, из которых рутин является наиболее представленным соединением [Гумерова с соавт., 2015, с. 212–221]. Известно, что условия культивирования могут оказывать влияние на особенности роста и морфологию клеток и клеточных комплексов суспензионных культур. Поэтому цель нашей работы заключалась в проведении гистологического анализа морфогенной суспензионной культуры гречихи

Морфогенная суспензия гречихи была получена из нодулярного каллуса [Гумерова, 2008, т. 150, с. 126–134], состоящего из возобновляющихся проэмбриогенных клеточных комплексов (ПЭКК) и клеток мягкого каллуса [Румянцева, 2004, т. 40, №5,

с. 571–578]. С помощью сит диаметром ячеек 1 и 1,5 мм отделяли друг от друга мелкую (159–669 мкм), среднюю (659–1005 мкм) и крупную (1005–3533 мкм) фракции.

Мелкая фракция суспензионной культуры гречихи была образована ПЭКК и эмбриоподобными структурами (ЭПС). ПЭКК размером до 200 мкм были образованы двумя типами клеток. На поверхности ПЭКК расположены клетки, накапливающие в вакуолях ФС, а центральную часть составляют меристематические клетки. ПЭКК большего размера образованы различными типами клеток (рис. 1, *а*). Под поверхностными клетками с ФС расположены меристематические клетки таблитчатой формы с плотной цитоплазмой, мелкими вакуолями, крупным ядром с ядрышком (рис. 1, *б*). В более глубоких слоях ПЭКК расположены меристематические клетки изодиаметрической формы (рис. 1, *б*). Еще глубже расположены паренхимные клетки. Среди удлиненных паренхимных клеток на гистологических срезах выявлены трахеиды. Удлинение срединных паренхимных клеток и дифференциация трахеид в ПЭКК свидетельствуют о разрыхлении ПЭКК.

Кроме ПЭКК, мелкую фракцию суспензионной культуры составляли клеточные структуры, образованные крупными меристематическими клетками (рис. 1, *в*). Поверхность структур покрыта таблитчатыми, плотно прилегающими клетками, образующими фрагментированный слой, аналогичный протодерме зиготических зародышей (рис. 1, *д*). Протодерма — меристематическая покровная ткань зародыша, свидетельствующая о переходе зародыша от предзародышевой (проэмбриональной) стадии развития к зародышевой эмбриональной [Андронова, 1997, т. 2, с. 346–352]. Подобные структуры в суспензионной культуре гречихи мы определяем как эмбриоподобные структуры (ЭПС). Формирование новых ЭПС наблюдали из отдельных поверхностных клеток протодермы, с плотной цитоплазмой и центрально расположенным ядром (рис. 1, *е*).

Средняя фракция суспензии образована ПЭКК и ЭПС. Кроме ПЭКК с полярным расположением меристематической и паренхимной областей, средняя фракция образована комплексами, в которых меристематические области расположены латерально по всей поверхности ПЭКК (рис. 2, *а*). Формирование новых ПЭКК наблюдали из поверхностных меристематических клеток с плотной цитоплазмой и центрально расположенным ядром (рис. 2, *б*). На срезах видны большие межклеточные пространства, заполненные нитевидным экстраклеточным матриксом. Предполагается, что определенные секретируемые молекулы могут выполнять как регуляторные функции (обособление эмбриогенных клеток из тканей ПЭКК и индукцию в них делений), так и функции питания, поддерживая рост новых ПЭКК. Формирование ПЭКК в суспензионной культуре происходит в результате разрыхления ПЭКК, аналогично возобновлению ПЭКК в каллусных культурах гречихи, описанных ранее [Румянцева, 2004, т. 40, №5, с. 571–57].

Кроме ПЭКК, среднюю фракцию гречихи образуют кластеры ЭПС (рис. 2, *в*), которые представляют клонирующиеся ЭПС. Вновь сформированные ЭПС в кластерах образованы однородными меристематическими клетками. В местах соединения с «родительским» ЭПС расположены более мелкие меристематические клетки (рис. 2, *в*). На гистологических срезах клонирующиеся ЭПС не имеют прокамбиальных тяжей, они также не связаны сосудистой системой с «родительским» ЭПС (рис. 2, *в*). Новые ЭПС могут формироваться из протодермальных клеток «родительских» ЭПС, как было показано (рис. 1, *г*).

В средней фракции суспензионной культуры исследованы комплексы ПЭКК с формирующимися на них ЭПС (рис. 2, *в*). Поверхность ЭПС покрыта фрагментированной протодермой, тогда как поверхность ПЭКК покрыта клетками, содержащими в вакуоли ФС.

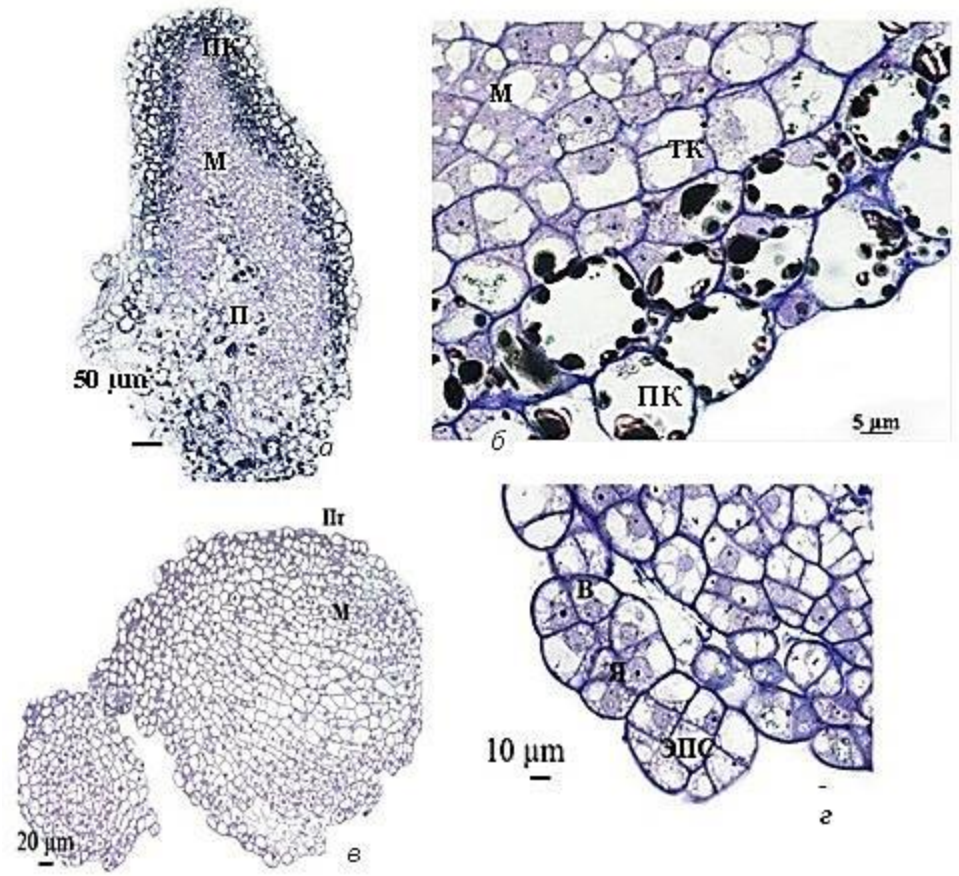


Рис. 1. Клеточные структуры мелкой фракции морфогенной суспензионной культуры гречихи:

а — разрыхляющиеся ПЭКК, б — особенности строения ПЭКК, в — ЭПС, г — формирование ЭПС из протодермальных клеток; М — меристема, П — паренхима, ПК — поверхностные клетки, ТК — таблитчатые клетки, Пт — протодерма

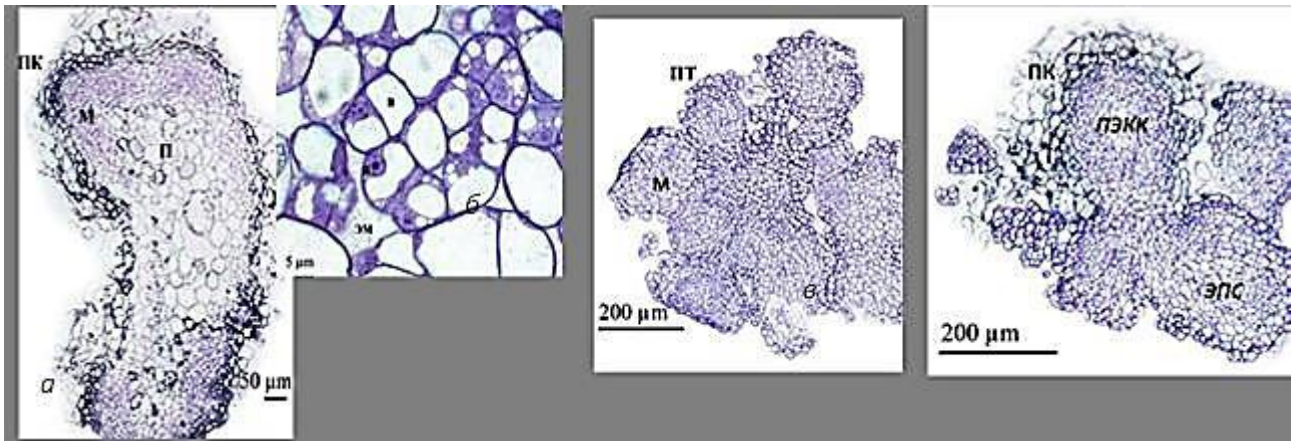


Рис. 2. Клеточные структуры средней фракции морфогенной суспензионной культуры гречихи:

а — ПЭКК, б — формирование новых ПЭКК, в — кластеры ЭПС, г — комплекс ПЭКК с ЭПС; В — вакуоль, М — меристема, П — паренхима, Пт — протодерма, ЭМ — экстраклеточный матрикс, Я — ядро

Крупная фракция суспензионной морфогенной культуры гречихи образована ЭПС, отличающимися морфологическим разнообразием. Основная часть крупной фракции представлена белыми структурами, образованными ПЭКК с формирующимися на них ЭПС (рис. 3). Комплексы подобного строения были описаны в средней фракции (рис. 2, *г*). Характерные особенности этих структур в крупной фракции — разрыхление ПЭКК, клонирование ЭПС. На гистологическом срезе (рис. 3) показано, что формирование ЭПС происходит из меристематических субповерхностных клеток ПЭКК.

В крупной фракции суспензионной культуры гречихи были обнаружены удлиненные коричневые палочкообразные ЭПС, образованные меристематическими и паренхимными клетками. Деление меристематических клеток способствовало формированию бугорков на поверхности структур. Коричневый цвет палочкообразных ЭПС, по-видимому, обусловлен синтезом и накоплением фенольных соединений на тонопласте вакуолей паренхимных клеток. В крупной фракции суспензии были отмечены ЭПС, морфологически напоминающие соматические зародыши.

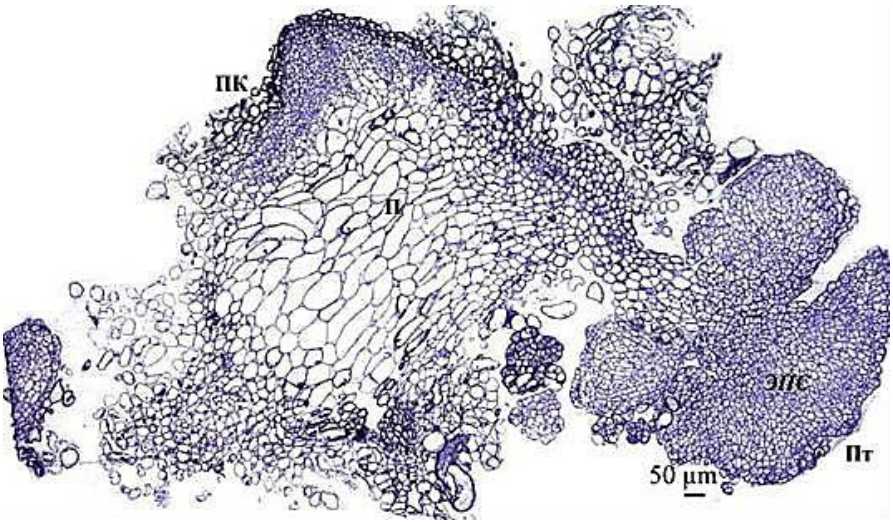


Рис. 3. Гистологический срез структуры крупной фракции морфогенной суспензии гречихи

Проведенные исследования показали, что к концу пассажа (14-й день культивирования) морфогенная суспензия гречихи татарской неоднородна и состоит из отдельных ПЭКК и ЭПС, а также кластеров, образованных этими структурами. Новые ПЭКК образуются из субповерхностных клеток предшествующих ПЭКК, а новые ЭПС — из субповерхностных клеток ПЭКК или протодермоподобных клеток ЭПС. Преобладание структур с фрагментированной протодермой, а также структур, напоминающих аномальные соматические зародыши, может быть обусловлено снижением к концу пассажа 2,4 –D, ингибирующего полярный транспорт ауксина и, соответственно, нормальное развитие эмбриоидов. Можно предполагать, что значительное разнообразие дифференцированных структур является основой высокого содержания ФС в суспензионной культуре гречихи татарской.

Список сокращений

ПЭКК — проэмбриональный клеточный комплекс; ЭПС — эмбриоподобные структуры; ФС — фенольные соединения; PECCs — proembryonal cell complexes; ELSs — embryo like structures.

Библиографический список

Андронова Е.В. Протодерма (эмбриодерма) // Эмбриология цветковых растений. Мир и Семья. СПб., 1997. Т. 2. С. 346–352.

Гумерова Е.А., Акулов А.А., Румянцева Н.И. Влияние метилжасмоната на характеристики суспензионной культуры гречихи татарской и накопление в ней фенольных соединений // Физиология растений. 2015. Т. 62, №2. С. 212–221.

Гумерова Е.А., Утина Д.Б., Румянцева Н.И. Получение и характеристика морфогенной суспензионной культуры гречихи татарской Fagopyrum tataricum (L.) Gaertn // Ученые записки КГУ. 2008. Т. 150. С. 126–134.

Румянцева Н.И., Акулов А.А., Мухитов А.Р. Экстраклеточные полимеры в каллусных культурах Fagopyrum tataricum (L.) Gaertn.c разной морфогенной активностью: динамика в ходе культурального цикла // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40, №5. С. 571–578.

УДК 634.861

А.В. Кравец, Н.Н. Терещенко

Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа (Томск, Россия)

БИОКОНВЕРСИЯ АГРОПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДОВ В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА

Определена зависимость свойств вермикомпоста от параметров исходного субстрата. Ростостимулирующую активность вытяжек из вермикомпоста оценивали биотестированием на семенах яровой пшеницы. Уровень ростостимулирующей активности вытяжки вермикомпоста существенно зависит от состава перерабатываемого дождевыми червями органического субстрата и режима содержания червей.

Ключевые слова: сельскохозяйственные отходы, дождевые черви, вермикомпост, стимулятор роста растений.

A.V. Kravets, N.N. Tereshchenko

Siberian Research Institute of Agriculture and Peat (Tomsk, Russia)

BIOCONVERSION OF AGRO-INDUSTRIAL WASTES IN BIOLOGICALLY ACTIVE PREPARATIONS FOR CROP PRODUCTION

The dependence of the vermicompost's properties on the initial organic substrate parameters was determined. Growth-promoting activity of extracts from vermicomposts was evaluated by testing on spring wheat seeds. The level of growth promoting activity of extracts from vermicompost greatly depends on the organic substrate composition processed by earthworms and the detention regime of earthworms.

Key words: agricultural waste, earthworms, vermicompost, plant growth stimulators.

Торф является источником гуминовых веществ и разнообразных биологически активных соединений. Его широко используют в биотехнологии переработки органических сельскохозяйственных отходов при формировании пищевых субстратов для дождевых червей. Биогумус (вермикомпост) — продукт переработки дождевыми червями торфонавозных смесей. Вермикомпост обогащен комплексом необходимых для растений макро- и микроэлементов, биологически активными гормоноподобными соединениями.

Цель наших исследований — определение зависимости свойств вермикомпоста от параметров исходного субстрата.

В ряде лабораторных экспериментов к низинному торфу добавляли отходы различных производств: навоз крупного рогатого скота, отходы картофеля, банановая кожура, шелуха кофе. Выбор различных органических отходов определялся исходя из его состава. Навоз КРС относится к «азотистым» органическим отходам, отличающим «узким» отношением C : N. Другие отходы относятся к «углеродистым», имеющим широкое отношение C : N. Основу субстрата для червей (Eisenia fetida Andrei) составлял низинный торф (20% по объему), в который в количестве 80% от общего объема органической смеси добавляли различные органические отходы. Норма запуска червей составляла 40 половозрелых (с поясками) особей на 1 кг субстрата. В процессе вермикомпостирования влажность субстратов поддерживали на уровне 75–80%. После созревания компоста (1–1,5 месяца) копролиты отсеивали через сито с диаметром отверстий 3 мм. Из копролитов путем слабокислого гидролиза (pH = 4,5, E = +80 °C, продолжительность 2 часа) получали водные экстракты. Ростостимулирующую активность полученных вытяжек и их разведений оценивали путем обработки семян яровой пшеницы сорта Иргина. Обработанные семена проращивали между слоями увлажненной фильтровальной бумаги в течение 7 дней. После проращивания подсчитывали всхожесть, измеряли сухую массу проростков и корешков. Контролем служили семена, обработанные дистиллированной водой. Полученные экспериментальные данные обрабатывали методом дисперсионного анализа с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows и Snedekor [Сорокин, 2004, с. 148].

Все из использованных сельскохозяйственных отходов способны перерабатываться червями с получением полноценного органического удобрения.

Свойства аналогично приготовленных вермикомпостных стимуляторов зависят от вида органических отходов. Так, стимулятор из торфонавозного вермикомпоста при разных разбавлениях способствуют увеличению массы проростка на 12–16% при исходном состоянии вытяжки. При разбавлении вытяжки 1 : 10 прирост проростка составляет 13–14%, при разбавлении 1 : 100 — 9–14%. При разбавлении вытяжки 1 : 1000 стимулирующее действие его не проявляется. При всех разбавлениях вытяжка практически не проявляет положительного влияния на величину корней.

Торфокартофельный вермикомпост менее значительно влияет на величину проростка. При разных разбавлениях исходной вытяжки прирост проростка составляет 2–6% к контролю. При этом на корнях не проявляется положительный эффект.

Торфокофейный вермикомпост при разных разбавлениях проявляет положительный эффект при разных разбавлениях увеличивая проросток на 7–19%.

Исследования микробиологических и биохимических аспектов вермикультивирования позволили авторам разработать способ получения стимулятора роста зерновых [Заявка №2014139309], отличающийся температурным режимом вермикомпостирования.

Изменение условий вермикомпостирования позволило получить вытяжку с другими свойствами. Так, «холодный способ» вермикомпостирования позволил улучшить свойства вытяжки. Исходная вытяжка из торфонавозного вермикомпоста увеличивает величину проростка на 22% в исходном состоянии, и на 10% при разбавлении 1:10 по сравнению с контролем. При этом в 1,5 раза увеличивается масса корней при воздействии исходной вытяжки и на 18% при разбавлении ее 1 : 10.

Результаты биотестов с вытяжками из вермикомпоста, полученного на основе «углеродистого» отхода (кожуры бананов), значительно отличались от данных биотестов, проведенных с вытяжками из вермикомпоста, полученного на основе «азотистого» отхода (навоза КРС). В частности, первые же биотесты с серией разведений, соответствующих разведениям вытяжек, которые были ранее приготовлены из

вермикомпоста на основе навоза КРС (т.е. разведения в 2 и 5 раз), показали ярко выраженный ингибирующий эффект на показатели как зеленой массы, так и массы корней проростков пшеницы. Убыль массы корней и зеленой массы проростков по сравнению с контролем достигала в среднем 5–15 и 3–10% соответственно.

Подобные эффекты авторы связали с тем, что вермикомпост, полученный на «углеродистом» субстрате, предположительно содержал более высокие концентрации биологически активных гормоноподобных веществ, высокие концентрации которых, как известно, способны оказывать обратный ингибирующий эффект на растения. Наличие ингибирующего воздействия на рост и развитие растений, выращиваемых на субстратах с высоким (более 50%) содержанием вермикомпоста, неоднократно отмечалось рядом авторов [Терещенко, 2003. с. 89; Arancon, 2006, p. 67].

Повторные биотесты с 10, 100 и 1000-кратными разведениями исходных вытяжек подтвердили данное предположение. В отличие от исходных разведений, попрежнему демонстрировавших ингибирующее воздействие на проростки пшеницы, замачивание семян в вытяжках, разведенных в 10, 100 и 1000 раз, способствовало увеличению массы корней на 3–12% и увеличению зеленой массы проростков по сравнению с контролем (обработкой H_2O) на 5–8%. При этом максимальный эффект влияния как на корни, так и на зеленую массу оказала обработка семян вытяжкой из вермикомпоста, разбавленной в 100 раз. Дальнейшее 1000-кратное разведение вытяжек привело к снижению их активности.

Таким образом, уровень ростостимулирующей активности вермикомпоста существенно зависит от состава перерабатываемого дождевыми червями органического субстрата и режима содержания червей. Для выбора оптимальных концентраций жидких стимуляторов необходимо проведение дополнительных исследований.

Библиографический список

Заявка №2014139309. Способ получения вермикомпоста, способ получения стимулятора роста зерновых из вермикомпоста / Н.Н. Терещенко, А.В. Кравец, пр. 29.09.2014.

Сорокин О.Д. Прикладная статистика на компьютере. Новосибирск, 2004. 162 с.

Терещенко Н.Н. Эколого-микробиологические аспекты вермикультивирования. Новосибирск, 2003. 116 с.

Arancon N.Q., Edwards C.A., Lee S., Byrne R. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth // European Journal of Soil Biology. 2006. №42. P. 65–69.

УДК 576.3/7.086.83:58

Н.Н. Круглова, О.А. Сельдимирова, Д.Ю. Зайцев, И.Р. Галин, А.Е. Зинатуллина

Уфимский институт биологии Российской академии наук (Уфа, Россия)

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ ФЕНОМЕНА АНДРОКЛИННОЙ ЭМБРИОИДОГЕНИИ *IN VITRO*[*]

Анализируются основные этапы инновационной биотехнологии стабильного получения растений яровой мягкой пшеницы в культуре *in vitro* изолированных пыльников на основе биологического феномена андроклинной эмбриоидогении. Биотехнология разработана с применением комплексных эмбриологических, морфологических, цитогистологических и физиологических исследований.

Ключевые слова: биотехнология, пыльник, культура *in vitro*, эмбриоидогения, пшеница.

[*] Работа частично поддержана грантом №НШ 5282.2014.4 по программе «Ведущие научные школы России» (лидер школы — член-корр. РАН Т.Б. Батыгина, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург).

N.N. Kruglova, O.A. Seldimirova, D.Yu. Zaitsev, I.R. Galin, A.E. Zinatullina
Ufa Institute of Biology of the Russian Academy of Sciences (Ufa, Russia)

BIOTECHNOLOGY OF OBTAINING OF SPRING SOFT WHEAT PLANTS ON THE BASE OF ANDROCLINAL EMBRYOIDOGENY PHENOMENON *IN VITRO*

The main stages of innovational biotechnology of stable obtainment of spring soft wheat plants in isolated anther culture *in vitro* on the base of biological phenomenon of androclinal embryoidogeny were analyzed. The biotechnology has been developed by the using of complex embryological, morphological, cyto-histological and physiological researches.

Key words: biotechnology, anther, culture *in vitro*, embryoidogeny, wheat.

Один из типов (категорий) вегетативного размножения растений — эмбриоидогения, элементарной структурной единицей которого является зародышеподобная структура — эмбриоид (греч. *εμβρυον* — зародыш, *ειδος* — образ) [Батыгина, 1993, с. 21–23; 2000, с. 334, 345]. Вариантом эмбриоидогении предложено считать андроклинную эмбриоидогению, состоящую в формировании эмбриоида из морфогенетически компетентной гаплоидной клетки пыльника и развитии эмбриоида до гаплоидного растения в условиях *in vitro* и *ex vitro* [Круглова и др., 2005, с. 3, 52; Круглова, Сельдимирова, 2011, с. 38–40, 42–45; Сельдимирова, Круглова, 2014, с. 476–477]. Полученные гаплоидные растения представляют собой клоны, сохраняющие генотип исходных донорных растений. Определяющую роль в этом играет тот факт, что единицей репродукции в данном случае является зародышеподобная структура со всеми характерными для зародыша органами [Круглова и др., 2005, с. 67–70]. Основное преимущество использования гаплоидных растений состоит в возможности быстрого получения гомозиготных линий, что облегчает селекцию фенотипов по качественным и количественным признакам [Батыгина и др., 2010, с. 5–6; Игнатова, 2011, с. 10–15; Ferrie, Caswell, 2011, p. 302–303; Germana, 2011, p. 283–285; Сатарова и др., 2013, с. 5–7, 203–210]. Дальнейший перевод гаплоидов в дигаплоидное состояние позволяет получать полноценные фертильные растения. Все это имеет большое значение в селекционно-генетических исследованиях, в том числе яровой мягкой пшеницы — основного хлебного злака. В статье приводятся результаты многолетних исследований сотрудников лаборатории экспериментальной эмбриологии растений по разработке биотехнологии получения растений яровой мягкой пшеницы на основе феномена андроклинной эмбриоидогении *in vitro.* Принципиальной особенностью разработки является подход, состоящий в комплексном использовании методов клеточной инженерии и данных эмбриологии, морфологии, цито-гистологии, физиологии растений.

Материалом для исследования послужила коллекция из 178 сортов яровой мягкой пшеницы, активно используемых в селекционных программах Башкирского НИИ СХ РАХН (Уфа). Критерием отбора послужила относительно высокая отзывчивость пыльников на условия культуры *in vitro* (эмбриоиды формируют более 10% инокулированных пыльников). В работе использованы: метод культуры *in vitro* пыльников яровой мягкой пшеницы с учетом эмбриологических данных [Круглова, Батыгина, 2002, с. 1–39], метод иммуноферментного анализа растительных образцов [Кудоярова и др., 1986, с. 1221–1225], метод светооптической микроскопии [Барыкина и др., 2004, с. 32–56; Круглова и др., 2013, с. 66–108]. Постоянные препараты просматривали с применением светового микроскопа Axio Imager (Carl Zeiss, Jena, Germany) при различном увеличении объектива, фотографировали при помощи цифровой камеры AxioCam MRc 5 (Carl Zeiss, Jena, Germany). Статистиче-

скую обработку полученных результатов вели с применением программы Excel, учитывая основные статистические параметры.

Экспериментально выявлено, что инициальными клетками андроклинной эмбриоидогении являются микроспоры в сильновакуолизированной фазе (по периодизации [Круглова, 1999, с. 277–279]). Способность к переключению программы развития такой микроспоры с обычной гаметофитной, ведущей к формированию пыльцевого зерна, на принципиально иную, спорофитную, приводящую к формированию растения, определяется, по нашему мнению, особенностью апикально-базальной полярной организации этой клетки: наличием хорошо развитой центральной вакуоли и крупного ядра, расположенного противоположно поре прорастания. По этому признаку сильновакуолизированная микроспора структурно сходна со зрелой яйцеклеткой большинства цветковых растений [Батыгина, Васильева, 1997, с. 311]. Нельзя не согласиться с Т.Б. Батыгиной [Батыгина, 2000, с. 346], что это свидетельствует о существовании принципиального сходства в организации инициальных клеток нового индивидуума при различных системах репродукции как в естественных условиях, так и в культуре *in vitro.* Фенотипические признаки донорных растений, содержащих пыльники с сильновакуолизированными микроспорами, таковы: кончик колоса, находящегося в листовой обертке, располагается строго на $^1/_4$ расстояния от основания флагового листа до основания предпоследнего снизу листа. Такие фенотипические признаки служат морфологическими маркерами для экспресс-диагностики донорных растений пшеницы и тем самым оптимизации процесса получения гаплоидов.

Экспериментально установлено, что индукция смены программы развития сильновакуолизированных микроспор, а значит, андроклинной эмбриоидогении вызывается стрессовым воздействием низкими положительными температурами в эмпирически выявленном режиме (+4 °С, 7 сут.) на изолированные пыльники перед их размещением на индукционную питательную среду. Согласно данным цитогистологического анализа, холод провоцирует отрыв сильновакуолизированных микроспор от стенки пыльника. Такой отрыв приводит к нарушению целостности пыльника как системы, нарушению морфогенетических корреляций между тканями стенки пыльника и сильновакуолизированными микроспорами и тем самым нарушению детерминации нормального гаметофитного развития микропор. Кроме того, отрыв приводит к изменению структурной организации сильновакуолизированной микроспоры (нарушение ее апикально-базальной полярности) и к изменениям стенки пыльника (дегенерация). Таким образом, стрессовое воздействие в определенном режиме служит триггером развития сильновакуолизированных микроспор по пути формирования андроклинных эмбриоидов в культуре *in vitro*.

После стрессовой предобработки пыльники инокулировали в условия *in vitro* на индукционную питательную среду Potato II [Chuang, Ouyang, 1978, p. 54–55] в собственной модификации [Круглова, Батыгина, 2002, с. 29]. Установлено, что индукция формирования андроклинного эмбриоида определяется балансом между концентрацией экзогенного ауксина 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) в модифицированной среде Potato II и содержанием выявленного методом иммуноферментного анализа эндогенного ауксина ИУК (индолил-3-уксусная кислота) в пыльнике в момент инокуляции. Для каждого сорта пшеницы баланс будет своим. Подбор такого баланса позволяет управлять процессом морфогенеза сильновакуолизированных микроспор в культуре *in vitro* и способствует ускорению получения андроклинных растений.

На основании детальных эмбриологических, цитогистологических данных, а также морфологических наблюдений установлены этапы развития инициальной

сильновакуолизированной микроспоры до сформированного андроклинного эмбриоида на индукционной питательной среде Potato II. При этом показано, что каждый этап развития андроклинного эмбриоида *in vitro* принципиально сходен с развитием зиготического зародыша донорного растения пшеницы в естественных условиях.

Сформированные андроклинные эмбриоиды переносили на среду для регенерации, составленную по прописи [Blaydes, 1966, p. 749] в собственной модификации [Круглова, Батыгина, 2002, с. 33]. Полученные растения выращивали в пробирках до фенофазы кущения. Далее растения извлекали из пробирок и с помощью цитогенетического контроля отбирали только гаплоидные особи. Их обрабатывали смесью для дигаплоидизации [Круглова, Батыгина, 2002, с. 35]. После цитогенетического контроля дигаплоидизированные андроклинные растения переносили в почву, где они развивались до фенофазы полной спелости зерна. Лабораторная и полевая оценка показали достаточно высокую всхожесть полученных зерновок андроклинных растений. Качество зерновок подтверждено данными цитогистологического анализа.

Таким образом, разработан лабораторный образец биотехнологии стабильного массового получения в условиях *in vitro* и *ex vitro* дигаплоидных растений яровой мягкой пшеницы. Лабораторный образец прошел успешную апробацию в полевых условиях Селекционного центра Башкирского НИИ СХ РАСХН (Уфа), показавшую их конкурентоспособность. Область применения разработанной биотехнологии — выведение новых районированных сортов яровой мягкой пшеницы с показателями, хозяйственно ценными в условиях Южного Урала.

Библиографический список

Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М., 2004. 312 с.

Батыгина Т.Б. Эмбриоидогения — новая категория способов размножения цветковых растений // Труды Ботанического института им. В.Л. Комарова. 1993. Вып. 8. С. 15–25.

Батыгина Т.Б. Эмбриоидогения — новый тип вегетативного размножения // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3 : Системы репродукции. СПб., 2000. С. 334–349.

Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Зигота // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2 : Семя. СПб., 1997. С. 307–321.

Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. От микроспоры — к сорту. М., 2010. 174 с.

Игнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений. Одесса, 2011. 224 с.

Круглова Н.Н. Периодизация развития пыльника злаков как методологический аспект изучения андрогенеза *in vitro* // Известия РАН. Серия биологическая. 1999. №3. С. 275–281.

Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б. Методические рекомендации по использованию морфогенетического потенциала пыльника в биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы. Уфа, 2002. 39 с.

Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. Эмбриологические основы андроклинии пшеницы. М., 2005. 99 с.

Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*. Уфа, 2011. 124 с.

Круглова Н.Н., Егорова О.В., Сельдимирова О.А., Зайцев Д.Ю., Зинатуллина А.Е. Световой микроскоп как инструмент в биотехнологии растений. Уфа, 2013. 128 с.

Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Еркеев М.И. Иммуноферментное определение содержания индолилуксусной кислоты в семенах кукурузы с использованием меченых антител // Физиология растений. 1986. Т. 33, №6. С. 1221–1227.

Сатарова Т.Н., Черчель В.Ю., Черенков А.В. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспекты гаплоидии. Днепропетровск, 2013. 552 с.

Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Андроклинный эмбриоидогенез *in vitro* злаков // Успехи современной биологии. 2014. Т. 134, №5. С. 476–487.

Blaydes D.F. Interaction of kinetin and various inhibitors in the growth of soybean // Physiol. Plant. 1966. V. 19, №3. P. 748–753.

Chuang Ch.-Ch., Ouyang T.-W. A set of potato media for wheat anther culture // Plant Tissue Culture: Proceedings of International Symposium. Peking, 1978. P. 51–56.

Ferrie A.M.R., Caswell K.L. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production // Plant Cell Tiss. Organ. Cult. 2011. V. 104, №3. P. 301–309.

Germana M.A. Anther culture for haploid and doubled haploid production // Plant Cell Tiss Organ Cult. 2011. V. 104, №3. P. 283–300.

УДК 619:614.31:632.118

И.А. Лебедева[1], Ж.А. Проккоева[1], С.В. Щепеткина[2]

[1]Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт (Екатеринбург, Россия)

[2]Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства (Ломоносов, Россия)

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ В ПТИЦЕВОДСТВЕ БИОКОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ

Описываются результаты исследований по применению в птицеводстве биопрепаратов на основе пробиотических штаммов спорообразующих бактерий Bacillus subtilis и неспорообразующих молочнокислых бактерий Lactobacillus acidophilus. Биокомплексы имеют различную антагонистическую активность в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, по-разному влияют на иммунную систему птицы. В птицеводстве пробиотики применяют для лечения и профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта, стимуляции роста и развития птицы, повышения ее продуктивности.

Ключевые слова: пробиотик, птица, желудочно-кишечный тракт, стрессы, антагонизм.

I.A. Lebedeva[1], Zh.A. Prokkoeva[1], S.V. Schepetkina[2]

[1]Urals Scientific Research Veterinary Institute (Ekaterinburg, Russia)

[2]All-Russian Research Veterenary Institute of Poultry Science (Lomonosov, Russia)

THE EFFECTIVENESS OF BIOCOMPLEX ON BASED ON STRAINS OF PROBIOTICS IN POULTRY

The authors describes the results of a study in Poultry on the use of biological products based on strains of probiotics spore-forming bacteria Bacillus subtilis and not spore-forming lactobacterium Lactobacillus acidophilus. Biocomplexes have different antagonistic activity against bacteria conditionally-pathogenic and pathogenic microorganisms. Probiotics have different effects on the immune system of the chicken. Probiotics are used for treatment and prevention gastro-intestinal diseases and for stimulate the growth and development of birds, and contribute to improving the productivity of poultry.

Key words: probiotic, poultry, gastrointestinal tract, stress, antagonism.

В настоящее время в животноводстве, птицеводстве и рыбоводстве широко применяются альтернативные технологии, пришедшие на смену антибактериальной терапии, — применение комплексов пробиотических бактерий в системе про-

филактических и противоэпизоотических мероприятий. Антагонистическую активность пробиотических штаммов по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам наука объясняет действием спектра продуцированных штаммами веществ, таких как органические кислоты, антибиотикоподобные вещества (бацитрацины и др.), в том числе усиливающие фагоцитарную активность крови, и другие метаболиты. Ряд научных работ освещают профилактические и лечебные свойства этих биопрепаратов [Лебедева, 2011; Щепеткина, 2002, 2014], в том числе в птицеводстве. Однако на практике зачастую применяется одинаковый подход к применению различных пробиотиков — спорообразующих и неспорообразующих, что вызывает «эффект неоправдавшихся ожиданий». Важное значение имеет знание особенностей биопрепаратов, содержащих штаммы живых культур симбионтных микроорганизмов рода Lactobacillus и препаратов на основе штаммов спорообразующих бактерий рода Bacillus.

Бактерии рода Bacillus являются продуцентами ферментов, являющихся продуктами микробиологического синтеза — гидролазы: целлюлазы, пектиназы, протеазы и др., и разлагающихся под действием собственных пищеварительных ферментов до аминокислот [Фениксова, 1973]. Семейство α/β-гидролаз считается уникальным по причине того, что способствует запуску адаптационного механизма. Также штаммы Bacillus subtilis продуцируют SMOM-активаторы — низкомолекулярные метаболиты, которые активируют иммунный ответ. При большом количестве этих бактерий иммунная система рискует истощиться. Имеются исследования о том, что малые и средние дозы пробиотика на основе Bac. subtilis оказывают на клеточный синтез белка больший стимулирующий эффект [Лебедева, 2011], поэтому важно применять их в минимальных или средних, по лечебным показаниям, дозах и ограниченное количество времени.

Культивирование микроорганизмов-продуцентов рода Bacillus осуществляется в промышленных условиях в стерильных аппаратах-ферментерах, в жидкую готовую форму вносят стабилизаторы-наполнители. Споровые бактерии стабильны и защищены естественной оболочкой, в тонком отделе кишечника переходят в вегетативную форму и методом конкурентного вытеснения снижают количество патогенных микроорганизмов.

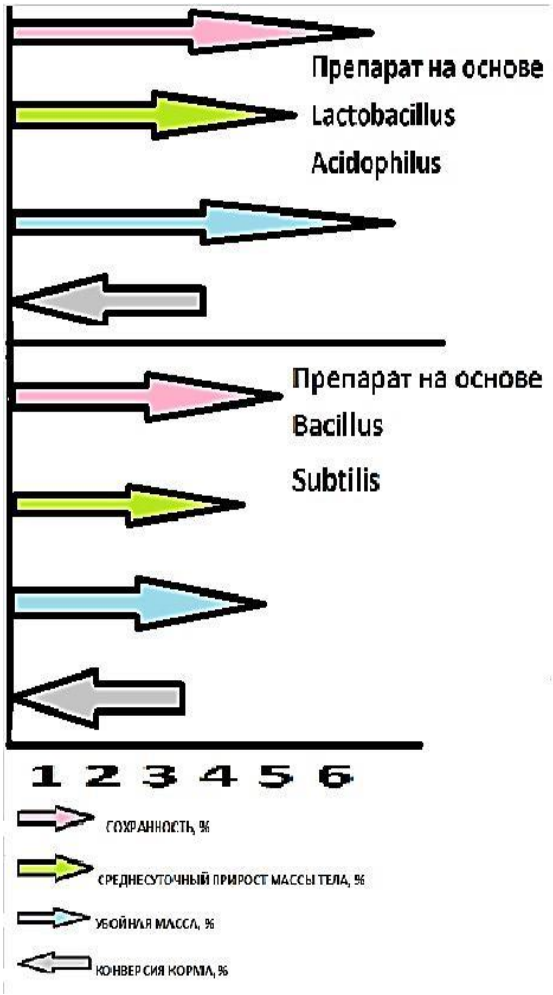
В отличие от спорообразующих бактерий, SMOM-ингибиторы вырабатываются лактобактериями, поэтому при большом количестве полезной микрофлоры желудочно-кишечного тракта наблюдается адекватное функционирование иммунной системы. Широкий спектр антагонистической активности в отношении патогенных бактерий и безвредность для макроорганизма даже в максимальных дозах и при длительном применении объясняют распространение Lactobacillus acidophilus в биокомплексах и закваскаx. При попадании в кислую среду желудка бактериальные клетки защищены от инактивирующего действия желудочного сока денатурированным казеином молока, и в результате действие препарата начинается уже на уровне желудка [Щепёткина, 2002]. Установлена устойчивость лактобактерий к воздействию желчи [Степанова и др., 2014].

Симбиотические системы характеризуются эффектом синергизма, но сочетание лучших штаммов не гарантирует получения лучшей закваски, характеризующейся нужными свойствами, так как штаммы обладают различной степенью совместимости друг с другом. Действующим началом исследуемого нами биокомплекса являются жизнеспособные клетки двух штаммов Lactobacillus acidophilus, чей синергизм проявляется в синтрофии — совместном питании и метаболизме [Степанова и др., 2014]. Это свойство обеспечивает высокую антагонистическую активность

в отношении Candida spp., Ps. aeruginosa, E.coli, Salmonella sp., St. aureus и других энтеропатогенных бактерий, выделяемых в птицехозяйствах.

В результате активной колонизации слизистой оболочки кишечника и стимулирования процессов микробного пищеварения исследуемые пробиотические штаммы способствуют сокращению сроков формирования микробиоценоза у цыплят-бройлеров до 2–7 дней [Кудрявцева, 2003]. Нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта имеет немаловажное значение для иммунологической защиты птицы от воздействия стрессов и неблагоприятного микробного фона, обусловленных технологией интенсивного выращивания, высокой плотностью посадки и создаваемыми на птицефабрике параметрами микроклимата. Нарушение микробиоценоза лежит в основе возникновения и развития многих заболеваний. Значительно уменьшают количество основных антагонистов, обеспечивающих колонизацию желудочно-кишечного тракта птицы, нарушают обмен веществ и приводят к появлению в птицехозяйствах антибиотикорезистентных микроорганизмов антибиотические препараты, применяемые в рамках лечебно-профилактических мероприятий.

Целью работы явился анализ многолетнего изучения эффективности применения в птицеводстве пробиотических препаратов на основе штаммов родов Lactobacillus и Bacillus, в сравнении со стандартной схемой ветмероприятий, принятой в птицехозяйствах (преимущественная антибиотикотерапия).



Изменение зоотехнических показателей при применении пробиотических штаммов

Материал и методы. На птицефабриках Свердловской области [Лебедева, 2011], Ленинградской области [Щепёткина, 2014] и Белгородской области [Кудрявцева, 2003] на цыплятах-бройлерах в течение периода выращивания применяли пробиотические штаммы отечественного производства (имеющие патентное депонирование) жидкой препаративной формы путем выпаивания согласно инструкции производителя: симбиотическую ацидофильную бикультуру на основе двух штаммов Lactobacillus acidophilus VS-77 и SV-77 из расчета 0,1 мл на 1 кг живой массы, и монокультуру спорообразующих бактерий Bacillus subtilis 945 (B-5225) из расчета 3 мл на 100 голов в сутки.

Изучали влияние препаратов на рост, развитие и состояние здоровья цыплят-бройлеров в условиях птицефабрик промышленного направления. По результатам еженедельного взвешивания судили о динамике живой массы цыплят опытных и контрольных групп. Учитывали расход корма на голову. Основные зоотехнические показатели (рис.) получены в конце откормочного периода.

Результаты.

1. В опытных группах, где применяли препарат на основе L.acidophilus, были выше в сравнении с контрольными группами следующие показатели: сохранность птицы на 2,9–4,6% ($p < 0,01$), среднесуточный прирост

массы тела на 2,1–5,0%; убойная масса на 131 г (7,3%) в благополучных хозяйствах. Конверсия корма в опытных группах ниже на 3,3% в среднем.

2. В опытных группах, где применяли препарат на основе Bac.subtilis, были выше в сравнении с контрольными группами следующие показатели: сохранность птицы на 4% ($p < 0,01$), среднесуточный прирост массы тела на 2,4%, убойная масса на 2,6%. Конверсия корма в среднем была ниже на 1,8%.

3. Экономический эффект составил в птицехозяйствах, где применяли препарат на основе: L.acidophilus — 3,66; Bac.subtilis — 3,80 руб. на рубль затрат. Стоимость применяемых препаратов находится в одном ценовом сегменте. Снижение экономических затрат связано с отсутствием необходимости в применении антибиотиков в определенные периоды.

4. По периодам выращивания в опытных группах: в первую неделю жизни цыплят сохранность выше на 2%, расход корма меньше на 2,9%; во второй-третьей неделях сохранность выше на 1,2%, конверсия корма ниже на 3,9%.

5. Исследование мяса бройлеров на биологическую полноценность белков показало, что самый высокий показатель у группы, которой выпаивали препарат на основе Bac. subtilis: соотношение триптофана к оксипролину 13 против 10.

6. Санитарное качество тушек бройлеров, которым выпаивали в течение 12–14 дней перед убоем препарат на основе L. Acidophilus, удовлетворительное, в результате бактериологических исследований получили снижение частоты выделения E. Coli и St. aureus (до 13,3–56,7%).

7. При применении препаратов, содержащих молочнокислые бактерии, в дозах, превышающих рекомендуемые в 5–10 раз, и при выпойке в течение всего периода выращивания клиническое состояние таких цыплят не нарушено, коэффициент оперяемости в 20-дневном возрасте был выше контроля на 1,5%.

8. Идентификация и количественный состав микрофлоры толстого кишечника бройлеров подтвердил, что при выпойке пробиотиков у 7-суточных цыплят преобладают грамположительные бактерии, а у 35-дневных — лактобактерии и бифидобактерии.

Выводы. Рекомендуем внедрять биокомплексы, содержащие штаммы живых культур симбионтных микроорганизмов рода Lactobacillus и препараты на основе штаммов спорообразующих бактерий рода Bacillus, в технологию интенсивного выращивания птицы в качестве альтернативы антибактериальной терапии в силу следующих причин:

1. Препараты на основе пробиотических штаммов обладают ростостимулирующим действием, способствуют повышению среднесуточного прироста и лучшему развитию цыплят-бройлеров.

2. На ранних сроках выращивания цыплят-бройлеров пробиотические штаммы обусловливают направленное и ускоренное формирование микробиоценоза, способствуя таким образом сохранности стада и поддерживая его иммунный статус.

3. Полученная продукция от птиц опытных групп отличается высоким санитарным качеством и биологической полноценностью. Такая продукция не будет вызывать антибиотикорезистентности и аллергии у потребителей мяса.

4. По причине в том числе снижения конверсии корма экономически оправдано.

Библиографический список

Кудрявцева А.В. Влияние пробиотиков на формирование и коррекцию кишечной микрофлоры цыплят при колибактериозе : дис. … канд. ветерин. наук. СПб., 2003. 142 с.

Лебедева И.А. Повышение биоресурсного потенциала цыплят-бройлеров на основе усовершенствованной престартовой и стартовой системы выращивания : дис. … д-ра биол. наук. Екатеринбург, 2011. 309 с.

Щепёткина С.В. Влияние пробиотика мультибактерин ветеринарный Омега-10 на продуктивность и естественную резистентность поросят при инфекционных желудочно-кишечных болезнях : дис. … канд. ветерин. наук. СПб., 2002. 173 с.

Щепёткина С.В., Дмитриева М.Е. Вакцинопрофилактика и здоровье кишечника // Сельскохозяйственные вести. 2014. №4.

Степанова А.П., Ловцова Л.Б., Проккоева Ж.А. Симбиотический биокомплекс на основе лактобактерий, применяемый в кормовых продуктах для поддержания здоровья животных и птиц // Современная биология: актуальные вопросы : материалы II науч.-практ. конф. 14–15 ноября 2014 г. СПб., 2014. С. 82–83.

Фениксова Р.В. Ферменты микроорганизмов // Биосинтез ферментов микроорганизмами : сборник. М., 1973. 315 с. С. 7–25.

УДК 579.69

Н.В. Лень, К.П. Алексеенко, Н.Н. Волченко, А.А. Самков, А.А Худокормов, Э.В. Карасева

Кубанский государственный университет (Краснодар, Россия)

ОСОБЕННОСТИ РОСТА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* B2 НА СРЕДЕ С ПОНИЖЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ДЕЙТЕРИЯ

В ходе периодического культивирования нефтеокисляющего штамма *Rhodococcus erythropolis* B2 из коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии Кубанского государственного университета на среде с пониженным содержанием дейтерия было показано, что при низких концентрациях дейтерия в среде происходит увеличение выхода биомассы и повышается активность роста нефтеокисляющих бактерий.

Ключевые слова: нефтеокисляющие микроорганизмы, легкая вода, стимуляция роста, показатель гидрофобности, гексадекан.

N.V. Len, K.P. Alekseenko, N.N. Volchenko, A.A. Samkov, A.A. Khudokormov, E.V. Karaseva

Kuban State University (Krasnodar, Russia)

CHARACTERISTICS OF GROWTH OF *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* B2 ON THE MEDIUM WITH REDUCED DEUTERIUM CONTENT

During batch culture of the strain *Rhodococcus erythropolis* oil-oxidizing B2 collection of the Department of Genetics, Microbiology and Biotechnology Kuban State University the medium with DDW was shown that at low deuterium concentrations in the medium is increased biomass yield and increased growth activity oil-oxidizing bacteria.

Key words: oil-oxidizing bacteria, light water, growth stimulation, the indicator of hydrophobicity, hexadecane.

Основную массу природной воды (свыше 99%) составляет протиевая (легкая), содержащая около 40 *ppm* дейтерия, в отличие от обычной, где содержится около 150 *ppm,* но 90% протиевой воды является недоступной для употребления человеком [Фрумин, 2002]. Чистой протиевой воды $^{1}H_2{}^{16}O$ в естественных условиях не существует, ее получают только в специализированных лабораториях. Для ее получения ведут многостадийную отчистку природных вод или синтезируют из исходных элементов $^{1}H_2$ и ^{16}O, которые предварительно отчищают от изотопов [Барышев, Джимак, Басов, Тимаков, 2014, с. 749–756].

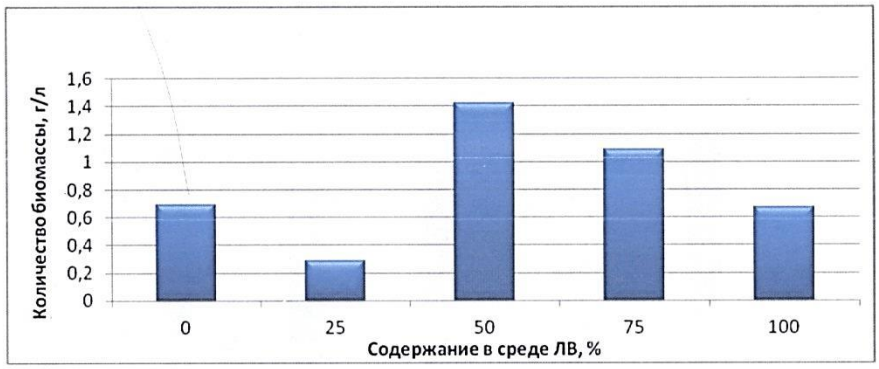
Легкая вода — это сложный по своей структуре и составу продукт, оказывающий полифизиологическое действие на биологические системы [Никитин, Оранская, Лобышев, 2003, с. 678–682; Самков, 2015, с. 136–142]. В этой связи важно оценить, какое влияние на организм она окажет с пониженным содержанием дейтерия. Учитывая роль воды в организме и известные изотопные эффекты тяжелой воды, а также результаты, полученные по легкой воде, можно ожидать, что наибольший эффект легкая вода окажет на свойства регуляторных систем и энергетический аппарат живой клетки [Егорова-Зачернюк, 2008, с. 524–548; Olariu, 2007, p. 265–269].

Воду с пониженным содержанием дейтерия получали на установке, разработанной Кубанским государственным университетом. Исходная концентрация дейтерия в получаемой воде составила 40 *ppm* [Флоров, Ломакина, Джимак, Барышев, 2012, патент №2521627].

На начальных стадиях эксперимента нами оценивалось влияние изотопного состава воды на повышение биомассы *Rhodococcus erythropolis* B2, при жидкофазном культивировании. Для опыта использовалось 30 конических колб с минеральной средой на основе легкой воды. Культивирование проводилось в течение 7 суток, на орбитальной качалке при 100 об./мин.

Для оценки влияния изотопного состава воды на накопление биомассы микроорганизмов мы варьировали концентрацию легкой воды в среде роста от 0 до 100% с шагом в 25%. В качестве источника углерода использовали гексадекан ($C_{16}H_{34}$). Культивирование проводилось на минеральной среде при температуре 25 °С.

Концентрация легкой воды в колбах с минеральной средой увеличивалась с шагом в 25%.



Концентрация биомассы клеток культуры B2 на среде с гексадеканом

По полученным данным, показанным на рисунке, обнаружено, что наибольшее значение концентрации биомассы в процессе культивирования достигается при концентрациях легкой воды в среде равных 50 и 75%, где значение количества биомассы в 2,5 и в 2 раза больше чем в контроле соответственно. Значение количества биомассы при 50% легкой воды равняется 1,4 г/л, что в 2,5 раза больше, чем в контроле. При концентрации легкой воды равной 75% накопление биомассы клеток равно 1,1 г/л, это в 2 раза больше, чем в контроле.

Таким образом можно сделать вывод, что на минеральных средах с различной концентрацией легкой воды, где в качестве источника углерода использовался гексадекан, наибольшее накопление биомассы *Rh. erythropolis* B2 наблюдается при концентрации легкой воды, равной 50 и 75%.

Библиографический список

Барышев М.Г., Джимак С.С. Басов А.А., Тимаков А.А. Влияние воды со сниженным содержанием дейтерия на изотопный состав тканей и морфофункциональные показатели организма у крыс из разных поколений // Биофизика. 2014. Т. 49, №4. С. 749–756.

Егорова-Зачернюк Т.А., Складнев Д.А., Швец В.И. Биотехнологическое получение униформно дейтерированных пурпурных мембран галобактерий для нанобиотехнологии // Биотехнология. 2008. №6. С. 60–72.

Никитин Д.И., Оранская М.Н., Лобышев В.И. Специфичность отклика бактерий на вариации изотопного состава воды // Биофизика. 2003. Т. 48, №4. С. 121–123.

Самков А.А., Джимак С.С., Барышев М.Г., Вочленко Н.Н., Худокормов А.А., Самкова С.М., Карасева Э.В. Влияние изотопного состава воды на продукцию биомассы Rhodococcus erythropolis // Биофизика. 2015. Т. 60, №1. С. 136–142.

Патент №2438766 Российская Федерация, МПК B01D 59/40 (2006.01). Способ получения биологически активной питьевой воды с пониженным содержанием дейтерия / В.Ю. Фролов, М.Г. Барышев, Л.В. Ломакина, С.С. Джимак; заявители и патентообладатели Учреждение Российской академии наук Южный научный центр РАН (RU), государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный университет» (RU). 2010121326/05; заявл. 25.05.2010 ; опубл. 10.01.2012, Бюл. №1. 7 с.

Фрумин П.Т. Экологическая химия и экологическая токсикология СПб., 2002. 245 с.

Olariu L., Petcu M., Tulcan C., Chis-Buiga I., Pup M., Florin M., Brudiu I. Deuterium depleted water- antioxidant or prooxidant? //Lucrări Stiinłifice Medicină Veterinară. 2007. Timisoara. Vol. XL. P. 265–269.

УДК 666.35:662.24:662.23:667.6

Е.И. Макарова, В.В. Будаева

Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН (Бийск, Россия)

СПОСОБ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА НЕПИЩЕВОГО ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ: ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ И ОТХОДОВ АПК

Разработан способ ферментативного гидролиза мискантуса и плодовых оболочек овса, включающий предварительную обработку сырья в одну стадию разбавленными растворами азотной кислоты или гидроксида натрия и ферментативный гидролиз полученного субстрата при установленных параметрах процесса (температура (45±2) °С, pH (4,6±0,3)) с использованием высокоэффективной мультиэнзимной композиции. Способ ферментативного гидролиза был внедрен в условиях опытного производства ИПХЭТ СО РАН.

Ключевые слова: мискантус, плодовые оболочки овса, предварительная обработка, ферментативный гидролиз, оптимальные параметры, выход редуцирующих веществ.

E.I. Makarova, V.V. Budaeva

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Biysk, Russia)

A METHOD OF ENZYMATIC HYDROLYSIS OF NON-FOOD CELLULOSE-CONTAINING RAW MATERIALS: ENERGY CROPS AND AGRO-INDUSTRIAL RESIDUES

A method of enzymatic hydrolysis of Miscanthus and oat hulls has been developed that includes one-stage pretreatment of the feedstocks with dilute nitric acid and alkaline solutions, and enzymatic hydrolysis of the resultant substrate under specified process condi-

tions (T (45±2) °C, pH (4.6±0.3)) by using a high-efficiency multienzyme composition. The enzymatic hydrolysis method has been brought into use under the pilot production of IPCET SB RAS.

Key words: miscanthus, oat hulls, pretreatment, enzymatic hydrolysis, optimum parameters, reducing sugars yield.

В настоящее время несовершенство существующих технологий и высокая себестоимость производства биоэтанола из лигноцеллюлозных источников [Jordan, 2012, p. 241–252] обусловливает необходимость разработки универсального способа переработки растительного сырья в доброкачественные гидролизаты — питательную среду для микробиологического синтеза этанола [Baibakova, 2015, p. 69–74] и других продуктов [Гладышева, 2015, с. 13–17]. В силу своей доступности и низкой стоимости перспективными сырьевыми источниками получения ферментативных гидролизатов являются энергетические культуры и отходы АПК. Мискантус — представитель энергетических культур. Мискантус сорта Сорановский — *Miscanthus sinensis* — Andersson, веерник китайский, является многолетним злаком и, начиная с третьего года культивирования, может ежегодно продуцировать на одном поле на протяжении 15–20 лет 10–15 т/га/год сухой биомассы в Сибири, что соответствует 4–6 т/га чистой целлюлозы. Плодовые оболочки овса (ПОО) — отходы АПК, которые составляют 28% от всей массы зерна. Высокое содержание целлюлозы в них, доступность и низкая стоимость определяют возможность их применения в качестве субстрата для последующей биоконверсии.

Цель работы — разработка способа ферментативного гидролиза непищевого целлюлозосодержащего сырья на модели мискантуса сорта Сорановский и ПОО.

Ферментные препараты. Для ферментативного гидролиза субстратов в работе использовались ферментные препараты отечественного и зарубежного производства: препарат «А» — «Целлолюкс-А», препарат «Б» — «БрюзаймBGX», препарат «В» — «Рапидаза ЦР». Препарат «А» стандартизирован по целлюлазе, «Б» — по гемицеллюлазе и обладает высокой целлюлазной активностью, «В» — пектолитический препарат, включающий в себя комплекс гемицеллюлазных ферментов.

Получение субстратов. Образцы целлюлозы из мискантуса и ПОО получены на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН азотнокислым (АС) и комбинированным (КС) способами. При АС сырье последовательно обрабатывалось разбавленными растворами азотной кислоты (промежуточный продукт — лигноцеллюлозный материал) и гидроксида натрия (конечный продукт — целлюлоза). При КС сырье последовательно обрабатывалось теми же реактивами, но в обратном порядке: промежуточный продукт — волокнистый материал, конечный продукт — целлюлоза.

Гидротермобарическая обработка сырья (ГТБО) проводилась в реакторе высокого давления при давлении 1,5 Мпа и продолжительности 600 с. Часть твердой фазы после взрыва — волокнистый материал — дополнительно облагораживали обработкой 2,0% раствором гидроксида натрия и перекиси водорода) с получением целлюлозы.

Гидротропная варка сырья осуществлялась обработкой сырья 35% раствором бензоата натрия с модулем 1 : 10, при температуре в камере 160–180 °С, давлении 1,0 МПа в течение 3–5 ч на универсальной термобарической установке.

Ферментативный гидролиз. В конические колбы вместимостью 0,5 дм^3 вносилась навеска субстрата, ацетатный буфер с растворенными в нем ферментными препаратами. Продолжительность гидролиза 72 ч. Перемешивание осуществлялось на горизонтальной перемешивающей платформе при фиксированной температуре с частотой колебаний 150 мин$^{-1}$. Фермент-субстратное соотношение — 1 : 50.

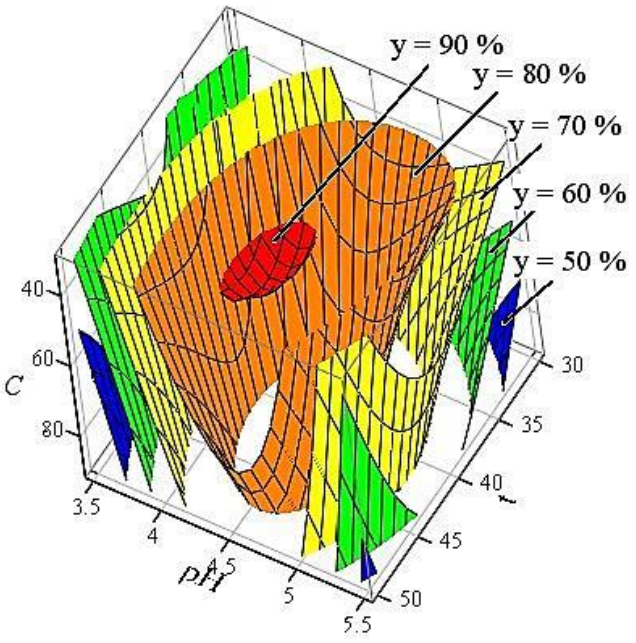
Экспериментальная часть. Химический состав сырья представлен по большей части гидролизуемыми компонентами: массовая доля в мискантусе целлюлозы 52% и пентозанов 21%, в ПОО — целлюлозы 45% и пентозанов 31%. Содержание суммы негидролизуемых компонентов (золы и лигнина) находится на одном уровне — 23%.

Подбор мультиэнзимной композиции для гидролиза необработанных мискантуса и ПОО. Препараты включались в композицию исходя из своей основной функции в соотношении 1 : 1 : 1; в каждую композицию входили препараты целлюлазного и гемицеллюлазного назначения. Композиции: (А+В), (Б+В), (А+Б), (А+Б+В). Гидролиз проводился в ацетатном буфере (pH 4,7) при температуре (50 ± 2) °С. Начальная концентрация субстрата составляла 30 г/л. Установлено, что гидролиз обоих видов сырья индивидуальными ферментными препаратами проходит с низкой степенью конверсии: выход редуцирующих веществ (РВ) не превышает 4,4–4,7%. Среди мультиэнзимных композиций наибольшую степень конверсии показала композиция (А+Б+В) — выход РВ составил 11,1–12,2% от массы субстрата и 14,4–14,9% от массового содержания гидролизуемых компонентов. Данный факт связан с наличием в ферментном препарате «В» не заявленной производителями целлобиазной активности, которая характерна для препаратов, продуцируемых грибами рода *Aspergillus,* в результате этого обеспечивается повышение эффективности действия препаратов «А» и «Б», поскольку препараты, продуцируемые грибами рода *Trichoderma,* обеднены целлобиазой.

Определение оптимальных параметров ферментативного гидролиза на модели образца целлюлозы мискантуса (АС). Для математического планирования эксперимента использовался план второго порядка (униформ-ротатабельного) на базе плана ПФЭ типа 2^3. На основании полученных результатов была построена экспериментально-статистическая модель, позволяющая определить выход РВ (Y) от pH, температуры (t, °С) и концентрации субстрата (С, г/л) (рис.). Каждая из поверхностей на рисунке соответствует определенному выходу РВ от 50 до 90% с шагом в 10%.

Методом наименьших квадратов было составлено уравнение регрессии для выхода РВ от указанных факторов, с помощью которого были рассчитаны оптимальные параметры, позволяющие получить максимальный выход РВ: pH (4,6 ± 0,3); температура (44,6 ±2) ˚С; концентрация субстрата 30 г/л.

Исследование реакционной способности к ферментативному гидролизу продуктов предварительной переработки мискантуса и ПОО. Разработанная методика определения реакционной способности субстратов к ферментативному гидролизу при оптимальных параметрах была применена для исследования реакционной способности продуктов переработки мискантуса и ПОО.



Зависимость выхода РВ (Y) от кислотности среды (pH), температуры процесса (t) и концентрации субстрата (С)

Способы предварительной обработки данных видов сырья и результаты оценки реакционной способности к ферментолизу полученных продуктов [Budaeva, 2013, p. 335–341; Makarova, 2014, p. 67–71; Makarova, 2014, p. 726–732; Makarova, 2014, p. 2156–2159] представлены в таблице.

Результаты ферментолиза продуктов предварительной обработки мискантуса и ПОО

Субстрат	Выход РВ от массового содержания гидролизуемых компонентов в субстрате,%	
	мискантус	ПОО
Продукты ГТБО:		
- волокнистый продукт ГТБО	56,0	95,0
- целлюлоза ГТБО	86,8	90,7
Гидротропная целлюлоза	74,0-87,0*	95,5
Продукты АС:		
- лигноцеллюлозный материал	92,0	98,3
- целлюлоза	72,3	88,3
Продукты КС:		
- волокнистый материал	94,6	99,9
- целлюлоза	91,9	92,9

Примечание: * — ферментолиз с добавлением ПАВ «Tween 80».

Проведенные эксперименты позволили рекомендовать обработку мискантуса и плодовых оболочек овса разбавленными растворами азотной кислоты или гидроксида натрия, при этом обеспечивается получение субстратов с выходами РВ при последующем гидролизе 92–100%.

Способ ферментативного гидролиза целлюлозосодержащего сырья интегрирован в комплексную блок-схему переработки недревесного сырья в полезные продукты ИПХЭТ СО РАН с наработкой укрупненных партий опытных образцов лигноцеллюлозного материала и волокнистого продукта, которые затем были использованы в качестве субстратов при ферментолизе в ацетатном буфере, водной среде и масштабировании по объему в ферментере емкостью 11 л. Технология внедрена на опытно-промышленном производстве ИПХЭТ СО РАН. Водные ферментолизаты исследованы в качестве питательной среды для синтеза этанола и бактериальной целлюлозы.

Выводы. Разработан способ ферментативного гидролиза мискантуса и ПОО, включающий обработку сырья в одну стадию разбавленным раствором азотной кислоты или гидроксида натрия и ферментолиз полученного субстрата при температуре (45±2) °С, pH(4,6±0,3) с использованием высокоэффективной мультиэнзимной композиции из комплекса целлюлазных, ксиланазных и β-глюканазных ферментов, который был внедрен в условиях опытного производства ИПХЭТ СО РАН.

Библиографический список

Гладышева Е.К. Изучение биосинтеза бактериальной целлюлозы культурой *Medusomyces gisevii J. Lindau* на средах с различной начальной концентрацией глюкозы // Фундаментальные исследования. 2015. №2-1. С. 13–17.

Baibakova O.V., Skiba E.A. Biotechnological Aspects of Ethanol Biosynthesis from *Miscanthus* // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2015. №1, V. 5. P. 69–74.

Budaeva V.V., Makarova E.I., Skiba E.A., Sakovich G.V. Enzymatic hydrolysis of the products of hydro-thermobaric processing of *Miscanthus* and oat hulls // Catalysis in Industry. 2013. №4, V. 5. P. 335–341.

Jordan D.B., Bowman M.J., Braker J.D., Dien B.S., Hector R.E, Lee C.C., Mertens J.A., Wagschal K. // Biochemical Journal. 2012. №442. P. 241–252.

Makarova E.I., Budaeva V.V., Skiba E.A., Sakovich G.V. Enzymatic hydrolysis of celluloses obtained via the hydrothermal processing of Miscanthus and oat hulls // Catalysis in Industry. 2014. №1, V. 6. P. 67–71.

Makarova E.I., Denisova M.N., Pavlov I.N., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Glucose containing hydrolysate of hydrotropic cellulose from *Miscanthus* (effect of Tween 80) // Russian Chemical Bulletin, International Edition. 2014. №9, V. 63. P. 2156–2159.

Makarova E.I., Budaeva V.V., Skiba E.A. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose from Oat Husks at Different Substrate Concentrations // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2014. №7, V. 40. P. 726–732.

УДК 633.878.32:630*160

К.А. Масленникова, О.М. Конюхова

Поволжский государственный технологический университет (Йошкар-Ола, Россия)

ИЗМЕНЧИВОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ РУТИНА В КОРЕ ОСИНЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИТОЦЕНОТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ

Прослежено количественное содержание рутина в экстракте коры Populus tremula L. в зависимости от географического положения деревьев и типа лесорастительных условий. Наибольшее количество рутина обнаружено в образцах коры Populus tremula L., заготовленной в Республике Татарстан (0,10 ± 0,01%). Использован спектрофотометрический метод.

Ключевые слова: изменчивость, рутин, кора Populus tremula L., зависимость, фитоценотические условия.

K.A. Maslennikova, O.M. Konyuhova

Volga State University of Technology (Yoshkar-Ola, Russia)

VARIATION OF ACCUMULATION ROUTINE IN THE BARK ASPEN DEPENDING ON PHYTOTSENOTICHESKY GROWING CONDITIONS

Traced the dependence of quantitative content rutin in the extract bark Populus tremula L. in depending on the geographic location trees and the type of forest conditions. The largest number of rutin found in samples of bark Populus tremula L. harvested in the Republic of Tatarstan (0,10 ± 0,01%). Spectrophotometric method was used.

Key words: variability, rutin, bark Populus tremula L., dependence, phytotsenotichesky conditions.

В настоящее время известен достаточно большой научный материал по изучению накопления растительными организмами биологически активных веществ (БАВ) в зависимости от экологических факторов условий произрастания. Результаты исследований в этой области показывают, что содержание определенных групп БАВ в растительных тканях в значительной степени зависит как от абиотических факторов — прежде всего климатические условия места произрастания (температура, влажность, свет), так от антропогенных факторов, например, действие раздражителей химической, радиационной и иной природы [Черняева, Перышкина, 1997, с. 105–108; Филиппов, 2000, с. 17; Кузьмина, 2002, с. 87–90].

Изменение условий среды сказывается не только на количестве тех или иных веществ, но и может вызывать в них глубокие качественные сдвиги [Кретович, 1986, с. 426]. Так, установлено, что с увеличением степени экстремальности клима-

тических условий произрастания в тканях ряда видов растений синтезируется большее количество биологически активных веществ [Журавская и др., 2001, с. 12].

Многочисленные исследования по изучению влияния условий произрастания на накопление растениями флавоноидов и алкалоидов показывают, что факторы внешней среды могут обусловливать значительные изменения в количественном содержании вторичных метаболитов. Так, изменения в составе флавоноидов в контролируемых условиях внешней среды были изучены на примере водного растения Spirodela oligoriza [Harborne, Turner, 1984, с. 552].

На основании анализа результатов большого числа подобных исследований выявлено, что, без сомнения, экогеографический фактор оказывает заметное влияние на распространение вторичных метаболитов.

Изменение содержания суммы флавоноидов в зависимости от высоты произрастания в различных районах Таджикистана изучалось М.И. Курбановым и соавторами [1993, с. 40–43] на примере зверобоя шероховатого — Hypericum scabrum L. Наиболее высокое их содержание было обнаружено в образце, собранном в пункте, расположенном на более высоком уровне.

В работах Г.Н. Черняевой, Г.И. Перышкиной [1997, с. 105–108] по изучению содержания и динамики фенольных веществ в коре пихты сибирской — Abies sibirica L. показано, что их содержание более всего зависит от сезона года. О влиянии температуры на накопление флавоноидов в литературе приводятся различные данные. С.С. Кузьминой [2002, с. 87–90] установлено, что содержание флавоноидов в листьях и цветках лекарственных растений прямо пропорционально их влагообеспеченности и обратно пропорционально средней температуре воздуха в июле.

Однако по другим литературным данным, с повышением температуры увеличивается накопление флавоноидов в плодах яблони [Бленда, 1972, с. 27]. В то же время, например у Periploca graeca, отмечали положительное влияние на содержание флавоноидов понижения температур. Низкие температуры и сильная освещенность способствуют образованию больших количеств антоциана, отсюда глубокие тона окраски цветков. Сообщения о влиянии влажности на накопление флавоноидов тоже разнохарактерны.

Изучение влияния экологических факторов и условий местообитания на содержание в растениях биологически активных веществ чрезвычайно важно как для разработки теоретических вопросов ресурсоведения, так и для обеспечения медицинской промышленности и сельского хозяйства высококачественным сырьем. Это позволяет выявить оптимальные районы заготовки для каждого вида и заготавливать сырье высокого качества.

Одним из интереснейших источников биологически активных веществ фенольного характера является осина обыкновенная Populus tremula L., относящаяся к семейству ивовых (Salicaceae), род тополь (Populus), имеющая широкий ареал произрастания (европейская часть России, Сибирь, Дальний Восток и т.д.) и, следовательно, большие сырьевые запасы [Кьосев, 2002, с. 496].

Согласно литературным данным в коре осины обыкновенной присутствуют различные классы БАВ фенольного характера (фенологликозиды, фенолокислоты, флавоноиды) [Масленникова и др., 2014, с. 383–386].

Фенольные соединения — самая крупная группа вторичных метаболитов. Функции их в растительном организме многочисленны и разнообразны. Эта группа вторичных метаболитов играет активную роль в самых различных физиологических процессах [Manthey, 2002, с. 108–110].

Флавоноиды (рутин, гесперидин, кверцетин) обладают Р-витаминной активностью, уменьшают хрупкость кровеносных капилляров, усиливают действие аскорбиновой кислоты, оказывают седативное и антиоксидантное действие, известны как противовоспалительные, противоязвенные, противолучевые и другие средства [Лобанова, 2004, с. 47–52].

Целью данной работы явилось изучение зависимости содержания флавоноидов в коре осины (Populus tremula L.) от ее географического положения (высоты над уровнем моря, широты и долготы) и условий местопроизрастания (типа лесорастительных условий и типа леса).

Объектом исследования выступали образцы коры осины обыкновенной, заготовленные в Республике Мари Эл, Кировской области, Республике Татарстан и Республике Коми.

Образец №1: заготовлен в период покоя в Советском районе Кировской области, высота над уровнем моря 105–109 м, координаты 57°35′05″ с.ш. 48°57′30″ в.д., тип лесорастительных условий (ТЛУ) — $В_3$, тип леса — Счер.

Образец №2: заготовлен в период покоя в Зеленодольском лесничестве Республики Татарстан, высота над уровнем моря 90–104 м, координаты 55°50′37″ с. ш. 48°31′04″ в. д., ТЛУ — $С_2$, тип леса — Бос.

Образец №3: заготовлен в период покоя в Сосногорском лесничестве Республики Коми, высота над уровнем моря: 94м,. 63°36' с.ш. 53°53′ в.д., ТЛУ — $В_3$, тип леса — Ссф.

Образец №4: заготовлен в период покоя в Куярском лесничестве Республики Мари Эл, высота над уровнем моря 80–110 м, координаты 56°37′58″ с. ш. 47°53′45″ в. д., ТЛУ — $В_2$, тип леса — Елп.

Материалы и методы. Содержание рутина определяли спекторофотометрическим методом, в котором использована реакция комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия.

Для приготовления экстракта аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц диаметром 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья переносили в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, приливали 100 мл 70% спирта этилового.

Оптическую плотность определяли через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 414 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В работе использовали ГСО рутина, остальные реактивы имели степень чистоты ч.д.а. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Smart Spec Plus.

Результаты и обсуждение. Количество флавоноидов в пересчете на рутин в образцах коры осины из разных регионов колебалось в пределах от 0,05 до 0,10% (табл.).

Содержание флавоноидов в коре осины в зависимости от условий произрастания

№п/п	Место сбора образца	Содержание флавоноидов в пересчете на рутин, %	P, %	V, %
1	Кировская область	0,05±0,01	9,37	35,05
2	Республика Татарстан	0,10±0,01	8,44	25,31
3	Республика Коми	0,06±0,003	5,93	17,79
4	Республика Мари Эл	0,08±0,01	6,22	18,67

Согласно нашим данным можно сделать вывод, что существует зависимость содержания вторичных метаболитов от условий произрастания Populus tremula L., так, наибольшее содержание рутина — 0,10% отмечено в Республике Татарстан при ТЛУ — C_2 и типе леса — Бос. Коэффициент вариации составил 25,31% (повышенный), точность опыта 8,44%. Наименьшее количество рутина выявлено в образце, заготовленном в Кировской области, что составило 0,05% при высокой изменчивости [Мамаев, 1972].

Таким образом, все образцы содержат оптимальное количество биологически активного вещества — рутина, что позволяет рекомендовать заготовку сырья осины обыкновенной в качестве добавки к кормам сельскохозяйственных животных и в медицине.

Библиографический список

Бленда В.Ф. Фенольные соединения плодов яблони и их биологическая активность : автореф. дис. … канд. биол. наук. Киев, 1972. С. 29.

Журавская А.Н. Адаптация к экстремальным условиям среды и радиочувствительность растений (радиоэкологические исследования) : автореф. дис. … д-ра биол. наук. М., 2001. С. 44.

Кретович В.Л. Биохимия растений. М., 1986. С. 438.

Кузьмина С.С. О зависимости накопления флавоноидов в лекарственных растениях Якутии от климатических факторов // Флора, растительность и растительные ресурсы Забайкалья. Улан-Удэ, 2002. С. 87–90.

Курбанов М.И., Мутаев М.М. Содержание биологически активных веществ в зверобое шероховатом (Hypericum scabrum L.), произрастающем в различных районах Таджикистана. // Растительные ресурсы. 1993. Т. 29, вып. 1. С. 40–43.

Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. М., 2002. С. 992.

Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2004. №1. С. 47–52.

Масленникова К.А., Конюхова О.М., Канарский А.В. Фенолгликозиды растений семейства Salicaceae // Вестник Казан. технолог. ун-та. 2014. Т. 17, №14. С. 383–386.

Филиппов Э.В. Физиолого-биохимическая оценка устойчивости генома дикорастущих растений к действию радиационных и нерадиационных стресс-факторов в Якутии : автореф. дис. … канд. биол. наук. Якутск, 2000. С. 20.

Черняева С.К., Перышкина Г.И. Динамика содержания суммы фенольных соединений в коре Abies sibirica Ledeb // Растительные ресурсы. 1997. Т. 33, вып. 4. С. 105–108.

Harborne J.B., Turner B.L. Plant chemosystematics. London, 1984. 562 p.

Manthey J.A., Buslig B.S. Flavonoids in Cell Function. Berlin, 2002. P. 108–110.

УДК 634.1/.7:606:57.082.26

С.А. Мишустина, Н.В. Ромаданова, К.Т. Абидкулова, С.В. Кушнаренко

Институт биологии и биотехнологии растений Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (Алматы, Казахстан)

ПОЛУЧЕНИЕ АСЕПТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ *BERBERIS ILIENSIS* M. POP. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Приведены результаты по введению в культуру *in vitro* побегов двух природных популяций барбариса илийского (*Berberis iliensis* M. Pop.) — редкого эндемичного растения, произрастающего на юго-востоке Казахстана. Оптимизирована методика проращивания семян во влажном перлите, позволяющая достигать от 72 до 93% лабораторной

всхожести семян. Отработаны способы введения в культуру *in vitro*, подобраны стерилизующие агенты и режимы стерилизации ($HgCl_2$, время обработки 7–10 мин), дающие возможность получать от 50 до 93,3% растений барбариса *in vitro*. Проверка пробирочных побегов на наличие эндофитной инфекции на специализированной среде 523 гарантирует получение 100% асептического растительного материала барбариса. Подобрана оптимальная для успешного развития растений *Berberis iliensis* в культуре *in vitro* питательная среда следующего состава: Мурасиге и Скуга с 30 г/л сахарозы, с 0,8 мг/л 6-бензиламинопурина, 0,02 мг/л индолилмасляной кислоты, 2 м/г л пантотената кальция, удвоенная концентрация хелата железа, 0,1 мг/л гиббереллловой кислоты, 1,75 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7.

Ключевые слова: *Berberis iliensis*, семена, побеги *in vitro*, асептическая коллекция.

S.A. Mishustina, N.V. Romadanova, K.T. Abidkulova, S.V. Kushnarenko

Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan)

OBTAINING AN ASEPTIC COLLECTION OF *BERBERIS ILIENSIS* M. POP. IN THE *IN VITRO* CULTURE

The article presents the results of the introduction of two natural populations shoots of Ili berberis (*Berberis iliensis* M. Por.) — a rare endemic plant growing in the south-east of Kazakhstan into *in vitro* culture. The method of seed sprouting in moist perlite was optimized that allows to reach laboratory seed germination from 72 to 93%. Methods on introduction into *in vitro* culture were completed, sterilizing agents and sterilization modes were selected ($HgCl_2$, processing time is 7–10 min) enabling to obtain *in vitro* berberis plantsfrom 50 to 93.3%. Testing of test-tube shoots for the presence of endophytic infection on specialized 523 medium guarantees 100% aseptic plant material of berberis. The optimum nutrient medium of the following composition was chosen for successful development of *Berberis iliensis* plants in the *in vitro* culture: Murashige and Skoog medium with 30 g/l sucrose, 0.8 mg/l 6-benzylaminopurine, 0.02 mg/l indolebutyric acid, 2 mg/l calcium pantothenate,doubled concentration of iron chelate, 0.1 mg/l gibberellic acid, 1.75 g/l gelrite, 4 g/l agar, pH 5.7.

***Key words*:** Berberis iliensis, seeds, *in vitro* shoots, aseptic collection.

Барбарис илийский (*Berberis iliensis* M. Pop.) — ветвистый колючий кустарник высотой до 3–4 м, с бледно-красными, продолговато-яйцевидными плодами. Распространен в ущельях в восточной части Заилийского Алатау и Кетменского хребта, на южных склонах Джунгарского Алатау, вблизи устьев рек Чилик, Чарын, впадающих в реку Или. С 1978 г. занесен в Красную книгу Казахстана, так как часть ареала уничтожена при строительстве Капчагайского и Бортогайского водохранилищ на реках Или и Чилик, к тому же маленькие и фрагментированные субпопуляции испытывают постоянное снижение численности из-за отбора воды, рубки и пожаров [Красная книга Казахской ССР. 1981, с. 263; Кокорева, 2007].

Барбарис илийский вызывает научный и практический интерес, так как, имея пищевое, лекарственное и косметологическое значение, недостаточно изучен [Ryabushkina, 2008, p. 64–71; Karimov, 1993, p. 69–70]. Учитывая полезные свойства данного исчезающего вида барбариса, важно изучить и сохранить это уникальное растение в природных популяциях. В дополнение к традиционным методам возможно сохранение побегов в культуре *in vitro* при температуре +24 °С, +4 °С (хладохранение), семян при температурах +4 °С, –20 °С и криоконсервация гермоплазмы — длительное сохранение генетического материала в криобанках при температуре –196 °С в жидком азоте [Engelmann, 2011, p. 5–16; Keller, 2008, p. 53–62; Lynch, 2007, p. 157–160].

На начальном этапе для осуществления сохранения барбариса необходимо ввести природный материал в культуру *in vitro*. Для этого производится подбор первичного экспланта, его обработка стерилизующими реагентами, а также оптимизируются режимы стерилизации.

Для введения в культуру *in vitro* были отобраны семена из двух природных популяций барбариса илийского: 1) пойма реки Чарын; 2) урочище Кербулак (в пойме реки Или), описанных Н.М. Мухитдиновым с соавторами [2014; 2010, с. 233–237]. В качестве эксплантов были использованы побеги, полученные из пророщенных семян во влажном перлите.

Для получения побегов барбариса часть семян после высушивания ягод и их шелушения высаживали в перлит, другая же часть семян закладывалась на трехмесячное хранение при температуре +4 °С. Перед посадкой семена замачивали в воде на 1–3 суток, такой прием увеличивал скорость появления побегов (на 17–25-е сутки без замачивания, с замачиванием на 11–13-е сутки), лабораторная всхожесть также увеличивалась с 55 до 100%. Семена высаживали во влажный перлит на глубину 1–1,5 см и проращивали в светокультуральной комнате при температуре 23–25 °С, освещенности 40 μE•m-2•s-1, 16-часовом фотопериоде (рис. 1).

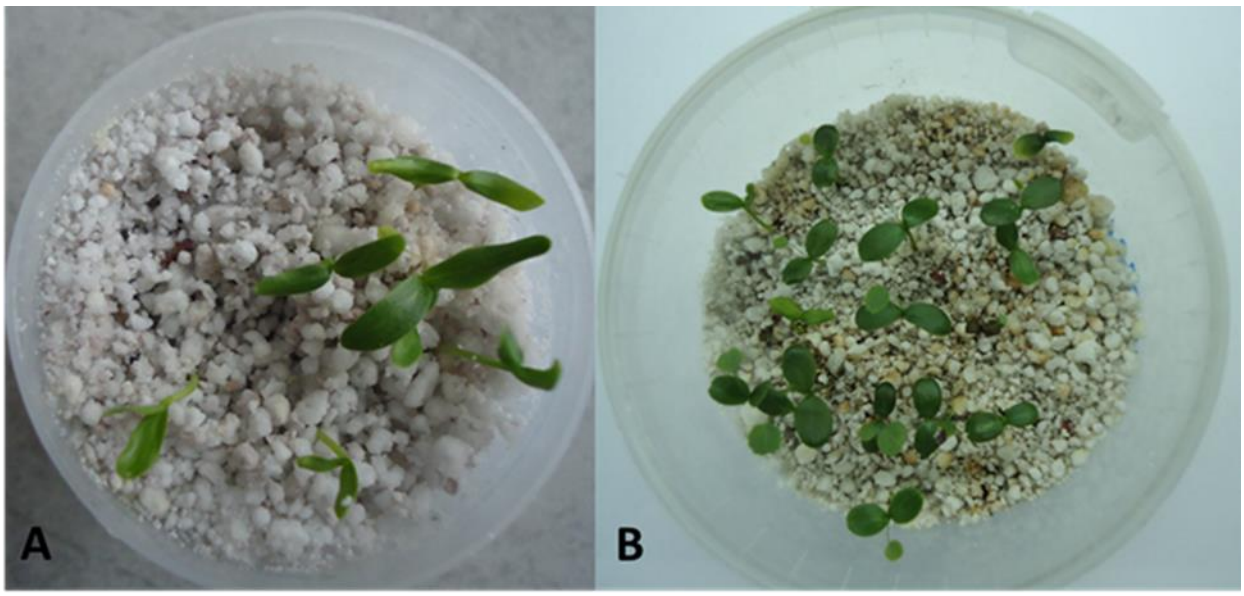


Рис. 1. Проращивание семян *Berberis iliensis* во влажном перлите:

А — проростки из семян, не подвергнутых замачиванию в воде перед посадкой, лабораторная всхожесть — 55%; В — проростки из семян, перед посадкой замоченных в воде в течение 3-х суток, лабораторная всхожесть — 100%

Полив семян производили через двое суток. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по общепринятым методикам [Лакин, 1990, с. 213].

Было выявлено, что хранение в течение трех месяцев при пониженных положительных температурах не повлияло на лабораторную всхожесть семян барбариса илийского 1 и 2 популяций, которая составила в среднем по образцам 80%.

Для введения в культуру *in vitro* использовали проросшие из семян побеги длиной 1,5–2 см с полностью раскрывшимися листьями, которые стерилизовали в ламинарном боксе одним из следующих стерилизующих реагентов: 1) 0,1% раствор сулемы ($HgCl_2$) в течение 3, 5, 7, 10 мин; 2) 3% раствор перекиси водорода (H_2O_2), 10 мин; 3) 1% раствор деохлора, 10 мин; 4) отбеливатель «Белизна», разбавленный

водой в соотношении 1:1, в течение 10 мин. Асептические верхушки побегов после стерилизации и трехкратного промывания в стерильной воде помещали в пробирки с питательной средой Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,01 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК), 1,75 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7 [Murashige, 1962, p. 473–479]. Полученные пробирочные растения выращивали в светокультуральной комнате при температуре 23–25 °С, освещенности 40 μE•m-2•s-1, 16-часовом фотопериоде. Пробирки с растениями, в которых были отмечены некроз или инфицированность побегов, сразу отбраковывали.

В результате проведенного эксперимента было отмечено, что стерилизация деохлором и перекисью водорода малоэффективна для введения в культуру *in vitro* барбариса илийского, все растения после обработки погибли или были инфицированы (рис. 2).

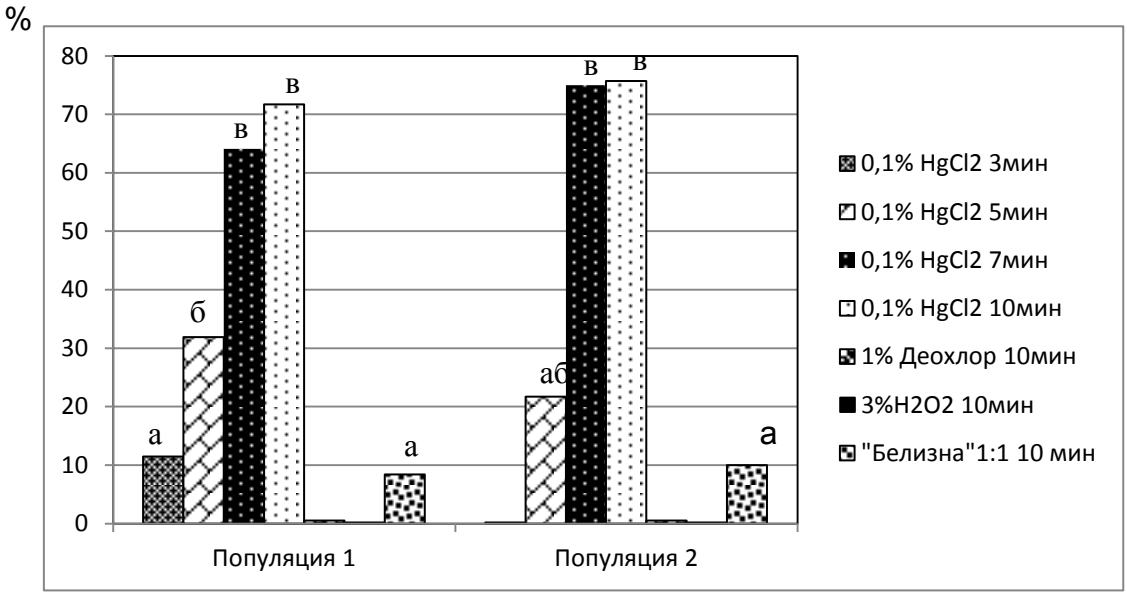


Рис. 2. Влияние стерилизующих агентов на жизнеспособность эксплантов *Berberis iliensis*. Значения, обозначенные разными буквами, достоверно различаются между собой при $p < 0,01$

Наиболее оптимальной стерилизацией была экспозиция побегов в 0,1% растворе $HgCl_2$ в течение 7 и 10 минут. При данном способе обработки у первой популяции барбариса илийского жизнеспособность побегов *in vitro* составляла от 64,1 до 71,7%, у второй популяции — от 75,0 до 75,7%.

Через три недели после введения в культуру *in vitro* побеги барбариса, имеющие визуально здоровый вид, проверяли на наличие эндофитной инфекции на специализированной среде 523 следующего состава: 10 г/л сахарозы, 8 г/л гидролизата казеина, 4 г/л дрожжевого экстракта, 2 г/л KH_2PO_4, 0,15 г/л $MgSO_4•7H_2O$ и 6 г/л джелрайта [Viss, 1991, P. 42]. Для этого основания побегов помещали в чашки Петри с питательной средой и культивировали при температуре 25 °С в течение 1–2 недель. Растения, в которых была обнаружена скрытая инфекция, отбраковывали. Для микроклонального размножения использовали только асептические растения.

Для дальнейшего микроклонального размножения барбариса экспериментальным путем подбирался оптимальный состав питательной среды МС, для чего проводили сравнение сред с различным сочетанием фитогормонов (БАП, ИМК и гиббереловая кислота (ГК), пантотената кальция (ПК) и хелата железа):

1) МС с 0,5 мг/л БАП; 0,01 мг/л ИМК;
2) МС с 1 мг/л БАП; 0,01 мг/л ИМК;
3) МС с 0,25 мг/л БАП; 0,01 мг/л ИМК;
4) МС с 0,8 мг/л БАП; 0,01 мг/л ИМК;
5) МС с 0,8 мг/л БАП; 0,02 мг/л ИМК;
6) МС с 0,8 мг/л БАП; 0,02 мг/л ИМК, 2 м/г л ПК;
7) МС с 0,8 мг/л БАП; 0,05 мг/л ИМК, 2 м/г л ПК;
8) ¾ МС с 0,8 мг/л БАП; 0,02 мг/л ИМК, 2 м/г л ПК;
9) ½ МС с 0,8 мг/л БАП; 0,01 мг/л ИМК, 2 м/г л ПК;
10) МС с 0,8 мг/л БАП; 0,02 мг/л ИМК, 2 м/г л ПК, удвоенная концентрация хелата железа;
11) МС с 0,8 мг/л БАП; 0,02 мг/л ИМК, 2 м/г л ПК, удвоенная концентрация хелата железа, 0,1 мг/л ГК.

Питательные среды №1 и №2 на первоначальном этапе введения в культуру показали себя неплохо, но при дальнейшем культивировании основания растений утончались, листья темнели, роста не наблюдалось.

При подборе количества БАП в питательной среде было выявлено, что концентрация 0,8 мг/л уже достаточна для формирования боковых побегов и для успешного развития растений в целом. При повышении концентрации ИМК до 0,05 мг/л у побегов появлялся каллус, наблюдалась тенденция угнетения роста растений. Выявлено, что наиболее оптимальная концентрация ИМК — 0,02 мг/л. При добавлении в среду 0,1 мг/л ГК, было отмечено, что растения идут в рост, быстрее вытягиваются. При добавлении в питательную среду удвоенной концентрации хелата железа, и ПК было отмечено появление у растений молодых листочков с сочной зеленой окраской (рис. 3).

Рис. 3. Развитие побегов *Berberis iliensis* 1 популяции в светокультуральной комнате (24 ± 1°С, освещенность 25 μмол•м-2•с-1, фотопериод 16/8 час)

Таким образом, для микроклонального размножения растений барбариса илийского была отобрана питательная среда №11.

В результате проведенных исследований была получена асептическая коллекция *Berberis iliensis* из двух природных популяций, которая послужит основой для

создания криогенного банка, может быть использована для международного обмена генетическими ресурсами, а также для закладки маточников.

Библиографический список

Красная книга Казахской ССР. Ч. 2 : Растения. Алма-Ата, 1981. 263 с.

Кокорева И.И. Растения Джунгарского и Заилийского Алатау, нуждающиеся в охране. Алматы, 2007. 212 с.

Лакин Г.Ф. Биометрия. 4-е изд. М., 1990. 213 с.

Мухитдинов Н.М., Аметов А., Абидкулова К.Т. Состояние ценопопуляций редкого и эндемичного вида *Berberis iliensis*. Гамбург, 2014. 53 с.

Мухитдинов Н.М., Аметов А.А., Абидкулова К.Т., Ыдырыс А. Некоторые фитоценотические особенности популяций *Berberis iliensis* M. Pop. // Вестник Иссык-Кульского университета. 2010. №27. С. 233–237.

Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity // *In Vitro* Cellular & Developmental Biology — Plant. 2011. V. 47, No. 1. P. 5–16.

Karimov A., Shakirov R. *Berberis* alkaloids. XX. Investigation of the alkaloids of *Berberis iliensis* // Chemistry of Natural Compounds. 1993. V. 29, No. 1. P. 69–70.

Keller E.R.J., Kaczmarczyk A., Senula A. Cryopreservation for plant genebanks — a matter between high expectations and cautious reservation // CryoLetters. 2008. V. 29, No. 1. P. 53–62.

Lynch P.T., Benson E.E., Harding K. Climate change: the role of *ex situ* and cryo-conservation in the future security of economically important, vegetatively propagated plants // J. Horticultural Science & Biotechnology. 2007. Vol. 82, No.2. P. 157–160.

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473–479.

Ryabushkina N., Gemedjieva N., Kobaisy M., Cantrell C.L. Brief review of Kazakhstan flora and use of its wild species // The Asian and Australasian journal of plant science and biotechnology. 2008. V. 2 (2). P. 64–71.

Viss P.R., Brooks E.M., Driver J.A. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture // *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 1991. V. 27. P. 42.

УДК 579.64

С.С. Муродова, К.Д. Давранов, В.В. Шурыгин

Национальный университет Узбекистана (Ташкент, Узбекистан)

НОВЫЙ МИКРОБИОПРЕПАРАТ ДЛЯ ХЛОПЧАТНИКА НА ОСНОВЕ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ

Изучено влияние смешанной культуры бактерий родов *Pseudomonas, Bacillus* и *Azotobacter* на формирование системы ассоциативного симбиоза с хлопчатником и его функционирование. Установлено, что при использовании бактериальных композиций состоящих из *Bacillus subtilis СКБ-309, Bacillus megaterium СКБ-310, Pseudomonas stutzeri СКБ-308* (1-й вариант), а также *Azotobacter chroococcum А-4, Bacillus subtilis СКБ 256 и Pseudomonas putida* СКБ-251 (2-й вариант), повышается всхожесть семян хлопчатника по сравнению с контрольными вариантами на 10,1 и 9,6% соответственно. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования составленной композиции бактерий для создания микробиопрепаратов комплексного действия для хлопчатника.

Ключевые слова: *Azotobacter chroococcum, Bacillus subtilis, Pseudomonas putida, Bacillus megaterium, Pseudomonas stutzeri.*

S.S. Murodova, K.D. Davranov, V.V. Shurigin
National University of Uzbekistan (Tashkent, Uzbekistan)

NEW MICROBIOLOGICAL FERTILASER FOR THE COTTON PLANT ON THE BASIS OF RHIZOBIAL BACTERIA

The influence of mixed culture of bacteria *Pseudomonas, Bacillus* and *Azotobacter* on formation of associative symbioses with cotton plants and its functioning was studied. Established that at application of bacterial compositions consisting from *Azotobacter chroococcum A-4, Bacillus subtilis СКБ 256, Pseudomonas putida* СКБ-251 *(1 variant),* and *Bacillus subtilis СКБ-309, Bacillus megaterium СКБ-310, Pseudomonas stutzeri СКБ-308 (2 variant),* increased the germination of seeds cotton plants in accordance with control variants by 10,1 and 9,6% accordingly.

Key words: *Azotobacter chroococcum, Bacillus subtilis, Pseudomonas putida, Bacillus megaterium, Pseudomonas stutzeri.*

Выяснение особенностей взаимодействия почвенных микроорганизмов с растениями является важнейшей фундаментальной проблемой, имеющей большое практическое значение. В настоящее время стало очевидным, что растения осуществляют регуляторные функции по отношению окружающей их корни среде. Также известно, что стрессовые факторы, какими являются засуха, засоления почв и другое, также влияют на состав микрофлоры и в конечном итоге на состояние и продуктивность растений [Lugtenberg (ed)., 2015, p. 257].

Нами на основе ризосферных бактерий рода *Pseudomonas, Bacillus* и *Azotobacter* создан новый комплексный высокоэффективный микробиопрепарат для хлопчатника, способный стимулировать рост и развитие растения, повышать его продуктивность, а также бороться с корневыми болезнями хлопчатника, вызываемыми фитопатогенными грибами, и предотвращать их. Новый препарат адаптирован для применения под хлопчатник в условиях среднезасоленных почв. В ходе проведенных экспериментов нами было замечено, что предварительная обработка семян суспензиями вышеприведенных штаммов и их композиций способствует защите хлопчатника от действия фитопатогенных грибов и оказывает существенное влияние на интенсивность роста и развития надземной, а также корневой системы растений [Муродова, 2008, с. 39; 2012, с. 17; 2013, с. 201–207, табл. 3; Шурыгин, 2012, с. 20–23].

Известно, что хлопчатник особенно чувствителен к факторам среды в ранней фазе роста, когда только начинают прорастать семена и формируются проростки. Поэтому влияние бактеризации наиболее целесообразно определить именно в этот период онтогенеза растений, чем в последующие фазы. В случае псевдомонад эффект бактеризации зависел и от их титра в суспензии, используемой для инокуляции семян. Так, использованная 5 мл суспензия *Pseudomonas putida СКБ-251* (титр клеток 1 х 10^8 кл/мл) для инокуляции 1 г семян снижает их всхожесть на 10–15%. Однако при уменьшении титра бактерий в 5 раз наблюдается активация всхожести семян на 7,1%. В ходе проведенных экспериментов было замечено, что положительный эффект бактеризации на всхожесть семян выражен больше на начальном этапе контактирования между растением и микроорганизмами, а затем он нивелируется по отношению к контролю.

Бактеризация семян хлопчатника штаммом азотобактера способствовала увеличению их всхожести в 1,1 раза. По-видимому, это связано с синтезом этим штаммов фитогормонов типа ауксинов. Бациллы, использованные нами в этих экспериментах, показали активную колонизирующую способность. В пределах проведенных

экспериментов мы не наблюдали уменьшения всхожести семян хлопчатника при бактеризации различными концентрациями (от 1 х 10^6 до 1 х 10^9 кл/мл) бацилл.

Нам было интересно изучить влияние различных смешанных бактериальных суспензий, а также количественное соотношение их компонентов на всхожесть семян хлопчатника. Результаты этих экспериментов представлены в таблице.

Влияние различных бактериальных суспензий на всхожесть семян растений хлопчатника

№	Варианты	Титр клеток, кл/мл	Всхожесть, %
1.	Контроль (стерильная вода)		81,1
2.	*Bacillus subtilis* СКБ -256	1 х 10^5	88,0
		1 х 10^6	85,9
		1 х 10^7	84,7
		1 х 10^8	83,1
		1 х 10^9	84,1
3.	*Pseudomonas putida СКБ-251*	1 х 10^5	82,2
		1 х 10^6	82,1
		1 х 107	83,7
		1 х 10^8	88,2
		1 х 10^9	86,7
4.	*Azotobacter chroococcum* А-2	1 х 105	86,1
		1 х 10^6	85,3
		1 х 10^7	90,3
		1 х 10^8	88,6
		1 х 10^9	87,6
5.	*Bacillus subtilis* СКБ -309	1 х 10^5	82,4
		1 х 10^6	86,1
		1 х 10^7	87,3
		1 х 10^8	89,2
		1 х 10^9	83,1
6.	*Pseudomonas stutzery СКБ-308*	1 х 10^5	83,4
		1 х 10^6	85,7
		1 х 10^7	88,3
		1 х 10^8	89,4
		1 х 10^9	86,7
7.	*Bacillus megaterium СКБ-310*	1 х 10^5	86,4
		1 х 10^6	84,5
		1 х 10^7	83,2
		1 х 10^8	89,8
		1 х 10^9	88,0

Среди этих культур самым эффективным является *Azotobacter chroococcum А-2* при титре 1 х 107 кл/мл. Однако влияние азотобактера, бацилл и псевдомонад на формирование корневой системы было неодинаковым. Именно процесс формирования устойчивой корневой системы зависел от состава бактериальных суспензий, а также от количественного соотношения их компонентов (табл.). Из проведенных экспериментов следует, что не существует универсального варианта обработки семян хлопчатника, т.е. оптимальная доза (титр) суспензии должна определяться исходя из индивидуальных особенностей сорта хлопчатника и штаммов бактерий, входящих в состав композиции, а также многих других факторов. Для хлопчатника сорта Ан Боёвут такая композиция имеет следующий состав: первый вариант — *Azotobacter chroococcum А-4* (1 х 10^7 кл/мл)+, *Bacillus subtilis 256* (1 х 10^5 кл/мл)+ *и Pseudomonas putida СКБ-251* (1 х 10^8 кл/мл) и второй вариант — *Bacillus subtilis СКБ-309*

(1 х 10^8 кл/мл), *Bacillus megaterium СКБ-310* (1 х 10^8 кл/мл), *Pseudomonas stutzeri СКБ-308* (1 х 10^8 кл/мл)

Полученные результаты могут быть объяснены способностью изучаемых штаммов бактерий к синтезу цитокининов и ауксиноподобных веществ. Кроме того, нельзя недооценивать способность исследуемых штаммов потенциально улучшать фосфорное (особенно *Bacillus megaterium СКБ-310*) и азотное питание (*Azotobacter chroococcum А-2 и Bacillus subtilis СКБ-256*) растений.

Таким образом, проведенные исследования позволяют отнести изучаемые штаммы к ростстимулирующим ризобактериям (PGPR), для которых функционирует комплекс механизмов положительного воздействия со стороны микроорганизмов на растения, защита от патогенов за счет синтеза гидролитических ферментов, антибиотиков, сидерофоров, синтез фитогормонов, фиксация молекулярного азота, мобилизации труднодоступных соединений фосфора и т.д. [Jordan, 2013, p. 4–9]. Более эффективное действие композиции штаммов по сравнению со штаммами по отдельности свидетельствует о формировании штаммами ризобактерии ассоциативного симбиоза, функционирующего в прикорневой зоне растений, в том числе хлопчатника.

На основании совокупности полученных экспериментальных материалов можно прийти к заключению о том, что отобранные PGPR бактерии при установленной нами композиции могут служить основой для создания нового микробиологического препарата комплексного действия для хлопчатника.

Библиографический список

Муродова С.С. Антагонистическая активность солеустойчивых бактерий рода *Pseudomonas* // Узбекский биологический журнал. 2012. №4. С. 16–18.

Муродова С.С., Гафурова Л.А., Файзуллаев Б.А., Махкамова Д.Ю., Тиллаев Э.Т., Саидалиев Б. Новый полифункциональный биопрепарат для повышения биологической активности засоленных почв // Вестник НУУз. 2013. №4/2. С. 201–207.

Муродова С.С., Гафурова Л.А., Файзуллаев Б.А., Хужаназарова М.К. Влияние микробной композиции на продуктивность хлопчатника // Агро XXI. 2008. №10–12. С. 38–39.

Шурыгин В.В., Лян Ю.В., Давранов К. Свойства бактерий *Azotobacter chroococcum* А-4. // Узбекский биологический журнал. 2012. №6. С. 20–23.

Lugtenberg (ed). Principles of Plant-Microbe Interactions. Springer international Publishing Switzerland, 2015. 450 p.

Jordan V., Guilhem D., Marie-Lara B., Bruno T., Yvan M.L., Daniel M., Laurent L., Florence W.-Dye, Claire P.C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning // J. Frontiers in Plant Science. 2013. Vol. 4. P. 1–19.

УДК 579.69

Д.Н. Отрошко, Ю.С. Журавель, Н.Н. Волченко, А.А. Самков, А.А. Худокормов, Э.В. Карасёва

Кубанский государственный университет (Краснодар, Россия)

СТИМУЛИРУЮЩИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ РОДОКОККОВ С РАСТЕНИЯМИ

Изучено влияние аминокислот как компонентов экссудатов растений на рост бактерий-деструкторов углеводородов нефти. Наибольший эффект показали глутаминовая кислота и аспарагин. Внесение триптофана способствовало синтезу индолил-3-уксусной кислоты. Среди изучаемых штаммов наибольший выход гетероауксина наблюдался у *Rhodococcus erythropolis* B2. Он составил 69,9 мкг/мл среды.

Ключевые слова: корневые экссудаты, аминокислоты, индолил-3-уксусная кислота (ИУК), нефтеокисляющий родококк, ризодеградация.

D.N. Otroshko, Yu.S. Zhuravel, N.N. Volchenko, A.A. Samkov, A.A. Khudokormov, E.V. Karaseva
Kuban State University (Krasnodar, Russia)

STIMULATING INTERACTION OF OIL-DEGRADING *RHODOCOCCUS* WITH PLANTS

The effect of amino acids as components of plant exudates on the growth of bacteria destructors of oil hydrocarbons had studied. Glutamic acid and asparagine had shown the greatest effect. Adding of tryptophan promoted synthesis of indole-3-acetic acid. Among the strains highest yield IAA were observed in *Rhodococcus erythropolis* B2. It was 69.9 ug/ml of medium.

Key words: root exudates, amino acids, indolil-3-acetic acid (IAA), oil-degrading rhodococcus, rhizodegradation.

В настоящее время становится привлекательной технология очистки загрязненных углеводородами почв с использованием метаболических потенциалов микроорганизмов и растений. Данный способ очистки территорий от ксенобиотиков получил название ризодеградация [Kuiper, 2004, p. 10]. Растения стимулируют рост необходимых бактерий, обеспечивают их соединениями-предшественниками, высвобождая широкий спектр веществ в окружающую среду [Bais, 2006, p. 247]. Кроме воздействия на бактерии корневые экссудаты (анионы органических кислот) повышают также биодоступность углеводородов [Martin, 2014, p. 645; Gao, 2014, p. 104–109]. В свою очередь, бактерии защищают растение от токсического воздействия поллютанта или стимулируют его рост, выделяя различные регуляторы роста растений (ауксины, гибберелины и т.д.). Среди стимулирующих рост растения веществ особое значение имеет такой представитель ауксинов, как индолил-3-уксусная кислота (ИУК) [Hayat, 2010, p. 585–586; Кулаева, 1995, с. 21]. Около 80% ризосферных микроорганизмов обладают способностью к синтезу этого фитогормона [Patten, 1996, p. 207]. Данной активностью обладает широкая группа грамположительных бактерий, в состав которой входят виды *Arthrobacter, Micrococcus, Bacillus, Rhodococcus, Mycobacterium, Microbacterium, Streptomyces* и *Corynebacterium* [Tsavkelova, 2006, p. 118]. Бактериальная ИУК увеличивает пролиферацию клеток корня. Это приводит к усиленному поглощению минеральных веществ из окружающей среды и выделению большего количества экссудатов корнями [Spaepen, 2007, p. 433–434]. Работами российских ученых было показано, что использование растительно-микробных ассоциаций благоприятно сказывается на процессах очистки почв, которые подверглись нефтяному загрязнению. Численность микроорганизмов-деструкторов углеводородов в ризосфере растений была значительно выше, чем в почве, свободной от корней [Назаров, 2013, с. 1674].

Целью нашего исследования было изучение способности к синтезу ауксинов различными штаммами бактерий *Rhodococcus erythropolis* и влияния различных аминокислот на рост родококков в жидкой культуре. Клетки данных микроорганизмов являются гидрофобными. Эта физиологическая особенность позволяет адгезироваться этим бактериям к углеводородному субстрату с дальнейшей деструкцией поллютанта [Martenkova, 2009, p. 163]. Кроме того, родококки использовались в очистке почв Юга России от нефтяных загрязнений [Карасёва, 2005, с. 67–72; Карасёва, 2006, с. 47] и отмечалось их положительное влияние на рост растений в процессе биоремедиации [Худокормов, 2013, с. 222].

Для исследования возможности синтеза ИУК в минеральную среду добавлялся L-триптофан (1 г/л), который является предшественником для синтеза ауксина ризосферными бактериями [Martens, 1993, p. 1679].

Для оценки влияния на рост родококка было использовано четыре различных аминокислоты, которые встречаются наиболее часто в составе корневых экссудатов (триптофан, аргинин, серин, глутаминовая кислота) [Кравченко, 2011, с. 783]. Они вносились в концентрации 1 г/л минеральной среды. После 4-х суток роста снимались показатели оптической плотности среды при длине волны в 670 нм.

Способностью к синтезу фитогормона ауксина обладали 6 из 10 изученных штаммов. Наибольший выход ИУК показал *Rhodococcus erythropolis* B2: концентрация гормона в среде роста бактерий составила 69,9 мкг/мл.

Добавление в среду аминокислот способствовало приросту оптической плотности бактериальной суспензии в три и более раза. Глутаминовая кислота и аспарагин оказали наибольший эффект на рост бактерий, а наименьший — триптофан.

Таким образом, можно сделать вывод, что растения и родококки могут оказывать взаимное влияние на рост друг друга. Растения, поставляя в ризосферу пул аминокислот, способствуют интенсивному накоплению бактерий-нефтедеструкторов. Последние, получая необходимые предшественники для синтеза физиологически активных веществ, влияют на ростовые характеристики растения. Дальнейшее изучение взаимодействий родококков и высших растений делает их перспективными объектами для применения в технологии фиторемедиации.

Библиографический список

Карасёва Э. В., Худокормов А.А., Самков А.А., Карасёв С.Г., Волченко Н.Н. Биологическая реабилитация земель, загрязненных нефтепродуктами, в условиях Южного федерального округа // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2006. Т. 2, №4. С. 47–48.

Карасёва Э.В., Гирич И.Е., Худокормов А.А., Алёшина Н.Ю., Карасёв С.Г. Биоремедиация черноземной почвы, загрязненной нефтью // Биотехнология. 2005. №2. С. 67–72.

Кравченко Л.В., Шапошников А.И., Макарова Н.М., Азарова Т.С., Львова К.А., Костюк И.И., Ляпунова О.А., Тихонович И.А. Состав корневых экзометаболитов мягкой пшеницы и томата, влияющих на растительно-микробные взаимодействия в ризосфере // Физиология растений. 2011. Т. 58, №5. С. 781–786.

Кулаева О.Н. Как регулируется жизнь растения // Соросовский образовательный журнал. 1995. №1. С. 20–27.

Назаров А.В. Использование микробно-растительных ассоциаций для очистки почвы от нефтяного загрязнения // Известия Саратовского научного центра РАН. 2013. Т. 15, №3 (5). С. 1673–1675.

Худокормов А.А., Карасёва Э.В., Самков А.А., Волченко Н.Н., Карасёв С.Г. Нефтеокисляющий биопрепарат с фитостимулирующими свойствами // Сборник трудов научно-технической конференции им. Леонардо да Винчи. Берлин, 2013. С. 221–224.

Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S.,Vivanco J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms // Annu. Rev. Plant Biol. 2006. Vol. 57. P. 233–266.

Gao Y.,Yuan X., Lin X., Sun B., Zhao Z. Low-molecular-weight organic acids enhance the release of bound PAH residues in soils // Soil and Tillage Research. 2014. Vol. 145. P. 103–110.

Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review // Annals of Microbiology. 2010. Vol. 60, №4. P. 579–598.

Kuiper I., Lagendijk E.L., Bloemberg G.V., Lugtenberg B.J.J. Rhizoremediation: abeneficial-plant-microbeinteraction // Molecular Plant-Microbe Interactions. 2004. Vol. 17, №1. P. 6–15.

Martens D.A., Frankenberger W.T. Metabolism of tryptophan in soil // Soil Biology and Biochemistry. 1993. Vol. 25, №12. P. 1679–1687.

Martin B.C., George S.J., Price C.A., Ryan M.H., Tibbet M. The role of root exuded low molecular weight organic anions in facilitating petroleum hydrocarbon degradation: current knowledge and future directions // Science of the Total Environment. 2014. Vol. 472. P. 642–653.

Martinkova L., Uhnakova B., Patek M., Nesvera J., Kren V. Biodegradation potential of the genus *Rhodococcus* // Environment International. 2009. Vol. 35, №1. P. 162–177.

Patten C.L., Glick B.R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid // Canadian Journal of Microbiology. 1996. Vol. 42, №3. P. 207–220.

Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling // FEMS microbiology reviews. 2007. Vol. 31, №4. P. 425–448.

Tsavkelova E.A., Klimova S.Yu., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review // Applied Biochemistry and Microbiology. 2006. Vol. 42, №2. P. 117–126.

УДК 619:614.31:631.116

Ж.А. Проккоева

Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт (Екатеринбург, Россия)

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА С КЛЕЯЩИМИ СВОЙСТВАМИ НА АКВАРИУМНЫХ РЫБАХ

Приведены результаты исследования по применению йодсодержащего антисептического средства с клеящими свойствами на аквариумных рыбах. Йод-полимерное средство мазь монклавит представляет собой однородную клейкую массу темно-коричневого цвета со слабым запахом йода. При нанесении монклавит-мази на травмированные ткани быстро образуется плотная пленка, обеспечивая защиту обработанного места и эффективное пролонгированное противовоспалительное и регенерирующее действие. Монклавит-мазь не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки аквариумных рыб.

***Ключевые слова*:** аквариумные рыбы, препарат, йод, клеящие свойства, бактерицидность.

Zh.A. Prokkoeva

Urals Scientific Research Veterinary Institute (Ekaterinburg, Russia)

EXPERIENCE WITH THE USE OF THE DRUG WITH ADHESIVE PROPERTIES ON AQUARIUM FISH

The author describes the results of a study on the use of iodine-containing antiseptic with adhesive properties for aquarium fish. The complex iodine-polymer Monclavit — ointment is a homogeneous adhesive mass of dark brown color with a faint odor of iodine. After application of the Monclavit — ointment on the injured tissue the dense film is quickly formed, providing protection of the treated place supplying both the effective anti-inflammatory and regenerating prolonged action. Monclavit — ointment not irritating to the skin and mucous membranes of aquarium fish.

Key words: aquarium fish, drug, iodine, adhesive properties, the bactericidal action.

Содержание и разведение аквариумных рыб требует определенной материально-технической базы [Визиренко, 2007, с. 12–19], но успех правильного ухода за рыбами зависит от внимательного отношения к ним и от «багажа» знаний и опыта аквариумиста. В настоящее время бурно развивается декоративное рыбоводство,

открываются частные публичные аквариумы, декоративные пруды, бассейны [Юнчис, 2013, с. 1]. В связи с этим постоянное перемещение рыб сопровождается манипуляциями, способствующими их частой травматизации. Дополнительно к травмам на здоровье рыб отрицательно влияет перенесенный транспортный стресс.

Запуск в аквариум новых особей зачастую приводит к боям за территорию, когда рыбы наносят друг другу укусы, ослабляющие защитную функцию слизистых оболочек, и в результате на рыб локально воздействуют и вызывают заболевания паразиты или инфекционные микроорганизмы, и в том числе условно патогенные [Юнчис, 2007, с. 76–81].

При таких неблагоприятных условиях на кожных покровах рыб образуются нарывы и язвы. Избавиться от вторичных микозных инфекций бывает непросто. Возбудители, например, микозных инфекций Achlya, Saprolegnia, активно размножаясь, отравляют токсинами организм рыбы. По данным ихтиопатологов, источниками появления наростов также становятся условно патогенные бактерии [JBL. Болезни рыб, с. 25].

Травмируют рыб и с целью проведения косметических операций: в декоративном рыбоводстве на самых дорогих экземплярах, например, санке (карп кои) часто практикуют подрезку цветовых пятен с целью достижения более четких границ рисунка [Гайдамака, 2007, с. 20–28].

Заболевания рыб, вызванные механическими повреждениями и неблагоприятными условиями среды в аквариуме, являются незаразными, но могут способствовать проникновению в организм различных микроорганизмов и привести к массовой гибели. Своевременно обнаружить заболевание рыб и правильно поставить диагноз непросто, поэтому вопросу профилактики развития инфекционного процесса необходимо уделять постоянное внимание. Применяемые с лечебно-профилактической целью препараты не должны нарушать формирование биофильтров в аквариумах, и по этой причине ассортимент препаратов по лечению болезней аквариумных морских рыб крайне ограничен [Юнчис, интервью, 2006].

Материал и методы

1. В связи с негативными последствиями травматизации рыб возникает необходимость в бактерицидном и противовоспалительном препарате, который способен удерживаться на влажной поверхности тела рыб [Юнчис, 2013, с. 1]. Научный подход при создании такой субстанции важен вследствие требований к ее свойствам:

1) способность приклеиваться к влажной поверхности и какое-то время удерживаться на ней, оказывая пролонгированное бактерицидное и регенерирующее действие;

2) не вызывать раздражения и ожога;

3) иметь способность смешиваться с другими лекарственными препаратами, усиливая их действие.

Производимая в Санкт-Петербурге монклавит-мазь обладает требуемыми клеящими и бактерицидными свойствами. Это йод-полимерное средство. По внешнему виду мазь представляет собой однородную клейкую массу темно-коричневого цвета со слабым запахом йода.

2. Ихтиопатологами океанариума была апробирована предложенная для наружного применения монклавит-мазь на аквариумных рыбах: на пресноводных моллинезиях (Mollienesia) — 10 экз., золотых рыбках (Carassius auratus) — 5 экз., белоперой акуле (Carcharhinus albimarginatus) — 1 экз., морских аратронах (Arothron hispidus) — 2 экз.

Для того чтобы монклавит-мазь эффективнее наносилась, был разработан метод предварительного прикладывания фильтровальной бумаги, на пару секунд, к месту нанесения для удаления влаги с участка тела без травмирования рыбы.

Однократно применяли монклавит-мазь на разных видах рыб с целью достижения основной задачи: выяснить, насколько долго мазь способна удерживаться на поверхности их тела (рис. 1).

Рис. 1. Этапы применения монклавит-мази на Mollienesia

Многократную, до пяти раз, обработку проводили на белоперой акуле, для лечения кожной микозной инфекции, и на аратроне, имевшего в области спинного плавника глубокую травму (рис. 2).

Результаты. В опыте на 5 экз. моллинезий травмировали небольшой участок поверхности тела, удалив несколько чешуек. После частичного удаления влаги фильтровальной бумагой наносили на рану капельку мази. Другие 5 экз. моллинезий не имели травм. Рыб помещали в аквариум и наблюдали за их состоянием и за скоростью растворения мази.

Во всех случаях рыбы не испытывали отрицательного воздействия мази — она не вызывала раздражения и ожога ни в момент нанесения, ни после него. Монклавит-мазь удерживалась на покровах тела в виде пленки, в среднем, на не травмированной поверхности от 3 до 8 мин, на травмированной — до 12 мин. На золотых рыбках мазь удерживалась до 8 мин, на белоперой акуле и аратронах — 12–15 мин. Таким образом, основная задача — способность удерживаться на поверхности тела, была достигнута. Проведенные исследования позволили сделать вывод, что на шершавой поверхности тела рыб и в морской воде монклавит-мазь присутствует дольше, чем на гладкой поверхности тела пресноводных рыб.

Рис. 2. Этапы обработки раны монклавит-мазью у Arothron hispidus.

Положительный результат лечения неизвестной кожной микозной инфекции у белоперой акулы получили после добавления в мазь нистатина и последующих обработок полученной субстанцией количеством 5 раз. Площадь поражения уменьшилась.

Травма у аратрона в области спинного плавника затрагивала мышечную часть и выглядела как воспаление с некротическими участками. После пятикратного применения монклавит-мази появилась рубцовая ткань, исчезли признаки воспалительного процесса.

Таким образом, мазь действительно обладает противовоспалительными и антисептическими свойствами.

Исследователи отметили и недостаток препарата: при контакте с воздухом мазь уплотняется, т.е. повышается ее вязкость, что затрудняет процесс нанесения или создает трудности при смешивании с другими препаратами. Поэтому средство должно быть комнатной температуры, его необходимо предварительно размешать и как можно быстрее нанести на рану и окружающие ткани.

Выводы. Монклавит-мазь при наружном применении на аквариумных рыбах действует как лечебный препарат с клеящими свойствами:

- способствует ускорению регенеративного процесса,
- действует бактерицидно и микоцидно,
- обладает уникальной способностью удерживаться на влажных поверхностях тела рыб, не вызывая побочных эффектов.

Монклавит-мазь необходимо использовать для местных обработок травмированных участков покровов рыб. В силу того, что создаваемая мазью эластичная

пленка действует как дополнительная защита раны от воздействий извне, происходит предотвращение бактериальных и микозных осложнений травмы. Клеящие свойства монклавит-мази свидетельствуют о ее высокой адгезионной способности и обусловливают пролонгированное бактерицидное действие. По цене препарат более чем доступен, особенно из-за экономичного расхода.

Библиографический список

Визиренко А. Некоторые наблюдения из практики разведения дискусов // Aquaterra.ua. 2007. №5. С. 12–19.

Гайдамака Л. Карп КОИ. Ч. 1 // Aquaterra.ua. 2007. №5. С. 20–28.

Юнчис О.Н. Некоторые малоизвестные заболевания аквариумных рыб // Проблемы аквакультуры : материалы Междун. науч.-практ. конф. по аквариологии. Межвед. сборник научных и научно-методических трудов. Вып. 2. М., 2007. С. 76–81.

Юнчис О.Н. Заключение по поводу испытания мази // Отчет от 20.05.2013. С. 2.

Что-Зачем-Как? // JBL. Болезни рыб : справочник. №4. 57 с.

Юнчис О.Н. Что такое океанариумы и зачем они нужны [Электронный ресурс]. URL: http://www.svoboda.org/content/transcript/157442.html.

УДК 581.143.6

М.В. Скапцов, М.Г. Куцев

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

ВЛИЯНИЕ ПОЛИ-N-ВИНИЛАМИДОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ КУЛЬТУР КЛЕТОК И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ *IN VITRO*

Изучали влияние поливинилпирролидона при внесении в питательные среды для культивирования растительных тканей *in vitro* на длительность культивирования каллусов *Inula britanica* L. В результате культивирования получены культуры каллусов с возможностью последующего эмбриогенеза. Отмечено снижение влияния суммы полифенолов на жизнеспособность каллусных культур и, как следствие, увеличения продолжительности культивирования с уменьшением количества пассажей. Количественное определение суммы полифенолов, также показало снижение последних в каллусной культуре *I. britanica* L.

Ключевые слова: культура *in vitro*, каллус, поливинилпирролидон, полифенолы.

M.V. Skaptsov, M.G. Kutsev

Altai State University (Barnaul, Russia)

EFFECT OF POLY-N-VINYLAMIDE TO GROWTH AND DEVELOPMENT OF PLANT CELL AND TISSUES *IN VITRO* CULTURE

Were studied the effect of polyvinylpyrrolidone at entering into the culture medium for the cultivation of plant tissue *in vitro* for the duration of culturing calluses *Inula britanica* L. As a result of the cultivation obtained callus cultures with the possibility of embryogenesis. Decrease the amount of polyphenols influence on the viability of callus cultures and as a result an increase in the duration of the culture with a decrease in the number of passages. Quantitative determination of the amount of polyphenols, also showed a decrease in the last callus culture *I. britanica* L.

Key words: plant *in vitro* culture, callus, polyvinylpyrrolidone, polyphenols.

Одной из проблем размножения растений *in vitro* является накопление полифенольных соединений, вследствие чего для некоторых культур требуется частый пассаж на свежие питательные среды. Продукты фенольного окисления являются токсичными для каллусной ткани и замедляют ее рост, так как культура *in vitro* не имеет активных механизмов избавления от данных продуктов [Naz, 2008]. Зачастую для нормализации роста и развития клеточных культур использую физические и химические сорбенты: хитозан, цистеин, фенолпропаноид, аскорбиновая кислота или адсорбенты, такие как активированный уголь [Lewandowski, 1993].

Меньше всего в культурах *in vitro* используются поли-N-виниламиды из-за недостаточной изученности реакций с полифенольными соединениями и компонентами среды, ингибирующего действия на рост и пр. Известно, что заряд большинства полифенолов является отрицательным при pH, близкой к нейтральной [Silva, 1991]. Тогда как по своим химическим особенностям поли-N-виниламиды различного строения в комплексе с полифенолами в водных растворах имеют различное водное окружение, в том смысле, что поляризованные молекулы воды участвуют в комплексообразовании через водородные связи с гидроксильными группами полифенолов и создают сетку водородных связей, окружающую молекулу [Кирш, 1998].

В наших исследованиях использовали поливинилпирролидон (ПВП) с разными молекулярными массами: 10–15 тыс., 25–40 тыс., более 60 тыс., в разных концентрациях: 0,5, 1, 1,5, 2, 3 г/л, путем внесения последних в питательные среды.

В качестве объекта использовали каллусные массы *Inula brtanica* L. Экспланты культивировали на агаризованной питательной среде MS с добавлением регуляторов роста 6-бензиладенин 1 мг/л и альфа-нафтилуксусная кислота 2 мг/л. Каллусогенез индуцировали в условиях затемненности при температуре 25 °С. Субкультивирование осуществляли через 28–30 суток до появления плотного каллуса.

Для оценки комплексного влияния ПВП и тиосульфата натрия на продолжительность культивирования каллусных тканей проводили наблюдения за изменением окраски каллусов. Количественное определение суммы полифенолов проводили в соответствии с общепринятой методикой [Руководство по методам контроля качества, 2004]. Каллусы высушивали при 40 °С в вытяжном шкафу. Высушенные каллусы измельчали в ступке до размера частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 2 мм. Для экстракции 40 мг измельченных каллусных тканей помещали в пробирки типа Эппендорф и заливали 1 мл дистиллированной воды, после чего плотно закрытые пробирки переносили в твердотельный термостат на 1,5–2 часа при температуре 40 °С, смесь встряхивали на вортексе каждые 15 мин. По окончании процесса экстракции образцы центрифугировали 1 мин при 10 тыс. об./мин до осветления раствора, полученный супернатант использовали в дальнейших исследованиях. Суммарное содержание фенольных соединений определяли методом Фолина — Чокальтеу в пересчете на галловую кислоту [Скапцов, 2014]. Для статистического анализа использовали ПО Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.).

Экспериментально доказано влияние ПВП со средней молекулярной массой 25–40 тыс. и в концентрации 1 г/л на снижение вероятности гибели каллусов при длительном культивировании. При данных условиях гибель каллусов составляла 20%, тогда как в условиях без присутствия ПВП гибель тканей составляла до 90%. Кроме увеличения длительности культивирования выявлено снижение концентрации суммы полифенолов в каллусной культуре (табл.).

Отмечено, что каллусные ткани, культивировавшиеся без смены питательной среды и внесения ПВП в течение 40 дней и более, прекращали рост и развитие.

Содержание суммы полифенолов в тканях *Inula britanica* L.

Тип среды	Время культивирования, сут.	Мин. конц., мг/г	Макс. конц., мг/г	Среднее и стандартное отклонение, мг/г
МС + ПВП	30	3,9	4,3	4,06 ± 0,13
	40	4,1	4,7	4,39 ± 0,22
МС	30	5,1	7,2	5,99 ± 0,75
	40	6,1	11,3	8,33 ± 2,09

Полученные нами данные свидетельствуют о целесообразности применения ПВП для продления срока жизни размножаемых методом поверхностного культивирования тканей растений, если существует проблема с чрезмерным накоплением фенольных производных в культурах растений требовательных к частой смене питательных сред.

Библиографический список

Кирш Ю.Е. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды: Синтез и физико-химические свойства. М., 1998. 252 с.

Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Руководство. Р 4.1.1672-03 (Утв. главным государственным санитарным врачом РФ 30.06.2003) / МЗ России. М., 2004.

Скапцов М.В., Балабова Д.В., Куцев М.Г. Оптимизация сред для культивирования растений in vitro на примере щавеля водного (Rumex aquaticus L.) // Сельскохозяйственная биология. 2014. №1. С. 32–35.

Lewandowski I., Kahnt G. Development of a tissue culture system with unemerged inflorescence of Miscanthus 'Gigantheus' for the induction and regeneration of somatic emrbryoids // Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1993. V. 1. P. 439–451.

Naz S., Ali A., Iqbal J. Phenolic content in vitro cultures of chick pea (Cicer arietinum L.) duaring callogenesis and organogenesis // Pac. J. Bot. 2008. V. 40, No. 6. P. 2525–2539.

Silva R.C., Darmon N., Fernandez Y., Mitjavila S. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds // J. Agric. Food Chem. 1991. V. 39. P. 1549–1552.

УДК 637.521.473

Е.В. Сордонова, С.Д. Жамсаранова

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

ТРОФОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Исследовано влияние комплексной кормовой добавки, содержащей связанные формы селена и йода, на микроэлементный состав сырья животного происхождения, а также на сохранность эссенциальных микроэлементов в пищевых продуктах при разных технологических процессах.

Ключевые слова: микроэлементы, селендефицит, йоддефицит, коррекция микроэлементной недостаточности, продукты функционального питания.

E.V. Sordonova, S.D. Zhamsarsnova
East Siberia State University of Technology and Management (Ulan-Ude, Russia)

TROPHOLOGICAL MICROELEMENT REGULATION OF FOOD

The effect of the complex feed additive containing related forms of selenium and iodine on the trace element composition of raw materials of animal origin, as well as the preservation of essential trace elements in food products in different industrial processes.

Key words: microelements, selen deficiency, iodine deficiency, micronutrient deficiency correction, functional food products.

Недостаточное, несбалансированное или избыточное поступление микронутриентов в организм человека часто является причиной возникновения различных патологических состояний. Это приводит к снижению общей резистентности организма, к значительному росту инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Приоритетными задачами государственной политики Российской Федерации в области здорового питания на сегодняшний день являются увеличение производства и расширение ассортимента пищевых продуктов, обогащенных функциональными ингредиентами, специализированных продуктов питания, продуктов функционального назначения, в том числе для питания в организованных коллективах, и биологически активных добавок к пище [Основы государственной политики…, 2010]. Поэтому расширение ассортимента указанных продуктов и биологически активных добавок является одной из основных составляющих здорового питания.

Недостаточное потребление эссенциальных микроэлементов является постоянно действующим фактором, охватывающим широкие слои населения. Республика Бурятия наряду с другими регионами является «биогеохимической провинцией» по недостатку таких микроэлементов, как йод и селен, в окружающей среде. Микроэлементная пара «йод и селен» имеет важное значение для функционирования щитовидной железы и влияет на секрецию тиреоидных гормонов L-тироксина и 3,5,3'-трийод-L-тиронина. Функционально йод и селен связаны между собой, селен входит в состав фермента йодтириониндейодиназы, обеспечивающей трансформацию тироксина в трийодтиронин [Berry et al., 1991]. При этом недостаток в организме как одного, так и обоих микроэлементов может служить одним из главных факторов риска в провоцировании йоддефицитных состояний, в первую очередь эндемического зоба. Дефицит селена вызывает симптомы гипотиреоидизма даже при достаточном поступлении йода. Таким образом, йод и селен метаболически тесно связаны — йод в организме не функционирует без селена.

Существуют разнообразные методы коррекции пищевого рациона человека. Одним их самых распространенных на сегодняшний день способов является обогащение продуктов питания за счет внесения специальных ингредиентов в виде биологически активных добавок или модифицированных компонентов.

Формирование функциональных свойств новых видов пищевых продуктов может осуществляться с использованием принципа пищевой комбинаторики, т.е. с учетом количественного подбора компонентов сырья и добавок, вносимых в рацион кормления сельскохозяйственных животных с целью обеспечения состава готового продукта. Данный способ коррекции микроэлементного состава пищевых продуктов является наиболее перспективным, обеспечивающим безопасность и наибольшую усвояемость вносимых микроэлементов.

Использование пищевой цепи через кормовую базу сельскохозяйственных животных позволяет получить продукты функционального назначения с заранее заданными свойствами. При обогащении эссенциальными микроэлементами кормо-

вого рациона животных в процессе метаболизма происходит накопление органических форм селена и йода в тканях организма, что позволяет получить пищевое сырье, обогащенное биодоступной формой микроэлементов.

Данная технология обогащения пищевых продуктов является наиболее безопасным путем оптимизации обеспеченности селеном и йодом жителей России, при этом введение микроэлементов в корм сельскохозяйственным животным обеспечивает высокие уровни селена и йода в конечной продукции. Кроме того, содержание селена и йода в кормах животных обусловливает профилактику заболеваний, связанных с недостаточностью этих микроэлементов в организме животных.

Целью наших исследований явилось обоснование научных и разработка прикладных аспектов обогащения эссенциальными микроэлементами (селен и йод) сырья и продуктов животного происхождения, а также обеспечение безопасности и стабильности функционально-технологических характеристик готового продукта путем системного управления трофологической цепью на разных этапах внесения.

Применение природных цеолитов в качестве основы для кормовых добавок является перспективным направлением. Благодаря своим сорбционным свойствам природные цеолиты могут использоваться как носители ферментов, витаминов, биологически активных веществ. Кроме того, природные цеолиты относятся к биоактивным минералам, обеспечивающим селективный ионный обмен, следствием чего является нормализация минерального гомеостаза.

Для получения органически связанных микроэлементов нами использовались белковый гидролизат эластина [Berry et al., 1991] и минеральные соли: селенит натрия и йодид калия.

Иммобилизация селенита натрия на белковый гидролизат эластина проводилась путем внесения миллимолярного раствора селенита натрия (0,001 М) при температуре 18–20 °С при pH 9,0. Оптимальное время связывания ионов селена с белковым гидролизатом составило 4–6 часов, за это время происходило выравнивание концентрации до 1 мкг/мл и установилось равновесное плато [Битуева, Жамсаранова, 2004, с. 47–48].

Связанные формы селена от неорганических ионов отделяли методом диализа. Диализ проводили при температуре 5 °С в течение 24 часов.

Иммобилизация йода на пептиды гидролизата эластина проводилась путем внесения миллимолярного раствора йодида калия при температуре 18 °С в течение 24 часов, при pH 7. Разделение связанных форм йода проводили методом диализа в течение 24 часов. Максимальная концентрация йода составила 1,6 мкг/мл [Berry et al., 1991, p. 438–440].

Оптимальный и самый простой способ получения селен- и йодсодержащего гидролизата состоял в смешивании готовых комплексов в соотношении 1 : 1, при этом pH среды изменялась до 8, а концентрации селена и йода уменьшалась в 2 раза, т.е. 0,5 мкг/мл по селену и 0,8 мкг/мл по йоду.

Для получения кормовых добавок нами были использованы цеолитовые туфы. Выбор размеров частиц цеолита (диаметр измельчения) обусловлен видом животных в соответствии с Наставлениями по применению природных цеолитов (1992 г.).

Нами были использованы цеолитовые туфы Холинского и Мухорталинского месторождений с диаметром помола 1,0–3,0 мм.

Для получения комплексной кормовой добавки, содержащей связанные формы селена и йода, проводили сорбцию модифицированного селеном и йодом гидролизата эластина на цеолитовые туфы диаметром измельчения 1–3 мм, при температуре 15-20 °С в течение 3 ч., при соотношении адсорбата и адсорбента 2 : 1. Высушивание проводили при установленных ранее режимах. Максимальная концентра-

ция селена составила 4,35 мкг/г, а максимальная концентрация йода — 7,56 мкг/г [Хонихоева и др., 2012, с. 259–264].

Рекомендуемая масса комплексной кормовой добавки, содержащей селен и йод, для включения в суточный рацион птиц составила 25 г, она была эквивалентна 109 мкг селена и 189 мкг йода. Кормление производили в течение трех месяцев до забоя.

Исследования показали, что привесы массы птицы в опытной группе по сравнению с контрольной превысили 22%. В течение всего эксперимента сохранность птицы была 100% и заболеваемость ее не наблюдалась. Установлено, что содержание селена и йода в мясе гусей составило 12,7 и 39,7 мкг/100 г мяса соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Содержание микроэлементов в мясе гусей

№	Наименование группы	Содержание микроэлементов, мкг/г	
		селен	йод
1.	Контрольная	0,048 ± 0,002	0,142 ± 0,028
2.	Опытная	0,127 ± 0,009*	0,397 ± 0,010 *

Примечание: * — достоверно относительно контрольной группы.

Анализ мяса птицы на содержание микроэлементов выявил увеличение содержание йода в 2,8 раза, а селена в 2,6 раза по сравнению с контрольной группой, получавших стандартный рацион кормления.

Мясо птицы — качественный, богатый белками продукт с низкой калорийностью по сравнению с другими видами мяса. При нагревании (жарка, варка) в мясе происходят специфические физико-химические превращения его компонентов и изменение их биологических свойств. Микроэлементный состав, как правило, существенно не изменяется, однако содержание неорганических, легко растворимых или летучих соединений при температурной обработке резко уменьшается.

Мясо птицы, содержащее селен и йод, подвергали тепловой обработке при разных режимах: температура (75–100) °С в течение 15–20 мин. и при (150 180) °С в течение 20–25 мин. До и после кулинарной обработки в мясе исследовали содержание селена и йода (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация микроэлементов в мясе до и после тепловой обработки

Мясо гусиное	t °С	Время, мин.	Содержание селена, мкг/г	Потери селена, %	Содержание йода, мкг/г	Потери йода, %
Сырое	–	–	0,127 ± 0,009	–	0,397 ± 0,010	–
Жареное	150–180	20–25	0,104 ± 0,033	18	0,314 ± 0,054	20,8
Вареное, мкг/г	75–100	15–20	0,121 ± 0,008	4,7	0,363 ± 0,009	8,5

Экспериментально установлено, что содержание селена и йода в исходном мясном сырье не влияло на функционально-технологические показатели котлетного фарша, химический состав и органолептические показатели готовой продукции животного происхождения из модифицированного сырья. Употребление 100 г продукта восполнит 29% от суточной потребности в данных микроэлементах.

Таким образом, получение продуктов животного происхождения с заранее заданными свойствами путем прижизненной регуляции трофологической цепи открывает перспективы для создания новых функциональных продуктов питания. При этом регулирование микроэлементного состава рациона сельскохозяйственных животных, проводимое нами, позволило получить обогащенное сырье не только на основе птицы (мясо, яйца), но и крупного рогатого скота [Жамсаранова, Нимацыренова, 2009, с. 55–56].

На основании результатов экспериментальных исследований с включением в рацион крупного рогатого скота и птицы нами предложены способы прижизненного формирования продуктов животного происхождения, обогащенных эссенциальными микроэлементами селеном и йодом, также предложен ассортимент продуктов функционального назначения, полученных путем направленного формирования компонентного состава мяса.

Библиографический список:

Основы государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года : Распоряжение Правительства РФ от 25 октября 2010 г., №1873-р. М., 2010. 4 с.

Berry M.J., Banu L., Larsen P.R. Type I iodtheronine deiodinase is selenicysteine-coctaining enzyme // Nature. 1991. №349. P. 438–440.

Битуева Э.Б., Жамсаранова С.Д. Эластин и перспективы его использования в технологии продуктов питания со специальными свойствами // Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья. 2004 г. №2. С. 47–48.

Хонихоева С.В., Жамсаранова С.Д., Сордонова Е.В., Зонхоева Э.Л. Модифицирование природных цеолитовых туфов Мухор-Талинского месторождения органическими комплексами селена и йода // Химия в интересах устойчивого развития. 2012. Т. 20, №2. С. 259–264.

Жамсаранова С.Д., Нимацыренова Л.Г. Селенобогащенная добавка для молока и сливочного масла // Сыроделие и маслоделие. 2009. №3. С. 55–56.

УДК 664.7(075.8)

О.Н. Терехова, А.А. Глебов, Д.А. Бехтев

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова (Барнаул, Россия)

ПОЛУЧЕНИЕ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ С РЕГУЛИРУЕМЫМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКОВОГО КОМПОНЕНТА

Обозначена актуальность повышения эффективности и безопасности производства продуктов питания из зерна пшеницы с различным содержанием белка, дан анализ способов производства высокобелковой муки, приведены результаты экспериментальных исследований процесса разделения муки на фракции в спиральном классификаторе, намечены перспективы дальнейших исследований.

Ключевые слова: белок, классификация, пневмосепарация, спиральный, мука, тонкая фракция, высокобелковая мука.

O.N. Terekhova, A.A. Glebov, D.A. Bekhtev

Altai State Technical University them. I.I. Polzunov (Barnaul, Russia)

PREPARATION OF WHEAT FLOUR WITH ADJUSTABLE CONTENT PROTEIN COMPONENTS

Denotes the urgency of increasing the efficiency and safety of food products from wheat with a different protein content, the analysis methods of producing high-protein meal, the

results of experimental studies of the process of separation of flour into fractions in a spiral classifier, outlined the prospects for further research.

Key words: protein classification pneumoseparation, spiral, flour, fine fraction, high protein.

В современном производстве продуктов функционального назначения особую нишу занимают изделия, предназначенные для детского и диетического питания, ориентированные на разные возрастные и социальные группы населения, в том числе продукты, имеющие повышенное содержание белка, например, для специализированного питания спортсменов, улучшители для хлеба и хлебобулочных изделий; или продукты с низким содержанием белков, а также их полным отсутствием для больных с хронической почечной недостаточностью и страдающих непереносимостью белка злаковых культур — целиакией. Алтайский край занимает одно из ведущих мест по производству зерна и его переработке, однако продукты с измененным содержанием белковой фракции, в основном завозные, а чаще импортные, имеющие немалую стоимость.

В настоящее время актуальна проблема импортозамещения и задача увеличения ассортимента муки и хлебопекарных смесей для различных видов продуктов, в частности муки и хлебопекарных смесей с повышенным либо пониженным содержанием белка и крахмала. Мука с высоким содержанием белка необходима для производства диетического и лечебного хлеба. В кондитерской промышленности при производстве бисквитного теста необходимо иметь муку с высоким содержанием крахмала. Мука с низким содержанием белка применяется для печенья, пирожных, тортов, вафель.

Как показывают исследования, наибольшее количество белковых веществ содержит фракция мелких частиц крахмальных зерен, а также частиц свободного белка с размерами 1–15 мкм, а наименьшее — фракция с частицами размером от 17 до 40 мкм. Получить такую высокую четкость сепарирования посредством традиционной ситовой классификации невозможно. Для выделения высокобелковой фракции используются методы пневмосепарации, в основе работы которых лежат самые различные конструкции центробежных пневмоклассификаторов, центрифуг с различным исполнением роторной части, разделяющих муку на ряд потоков, при этом выделенные фракции дополнительно измельчают в штифтовых измельчителях ударного действия и снова отправляют на пневмоклассификаторы. Подобная технология, безусловно, сложна и энергоемка. Более простой вариант получения тонкой высокобелковой фракции муки использован на ряде мукомольных заводов с пневмотранспортом продуктов размола в размольном отделении, при транспортировании муки высшего и первого сортов создают регулируемый подсос воздуха в циклоне-разгрузителе, что уменьшает эффективность отделения в нем тонкой фракции, поэтому далее воздух направляют в пылеотделитель второй ступени. По такой технологии получают муку с содержанием белка 25% и выходом 1,5%.

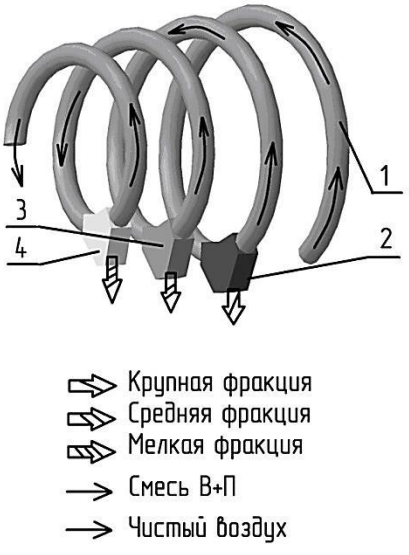
Кроме того, следует отметить, что эффективные системы обеспыливания воздуха на опасных производственных объектах по хранению и переработке зерна являются не только важной частью технологического процесса, но и определяют степень безопасности производства в целом. На предприятиях отрасли непосредственно в аспирационных и пневмотранспортных системах возникает до 13% всех взрывов и хлопков, а удельный вес крупных взрывов, произошедших вследствие неудовлетворительного обеспыливания технологического, транспортного оборудования и емкостей приближается к 90% [Терехова, Глебов, 2015, с. 485]. Улавливание тонкодисперсной фракции пылевидного продукта имеет важное значение, так как именно эта фракция во всех отношениях представляет собой большой практический интерес.

Проведенные нами ранее экспериментальные и теоретические исследования позволили в Алтайском государственном техническом университете на кафедре МАПП разработать установку [Терехова, 2011, с. 168, 171], где пневмосепарирование дисперсного материала осуществляется за счет взаимодействия центробежной силы, силы аэродинамического сопротивления, силы тяжести и силы, обусловленной ускорением Кориолиса, а также силы трения, возникающей на вращающихся поверхностях.

При проведении испытаний выяснилось, что на эффективность работы пневмоинерционного классификатора оказывают влияние гранулометрические свойства продукта, поступающего в установку, равномерность подачи материала. Экспериментально было замечено, что отдельные частицы продукта по размерам не должны превышать расстояния между дисками продукта и зазоров между дисками и корпусом классификатора. Если же данное условие не выполнялось, то эффективность разделения резко падает либо происходит забивание продуктом пространства между дисками и остановка работы. Подобное явление приводит к выводу о том, что для эффективного разделения продукта в классификаторе существуют некоторые граничные условия по дисперсному составу поступающего продукта, а размеры основного рабочего органа также определяются свойствами продукта.

При разделении в классификаторе муки высшего сорта были получены фракции, отличающиеся не только по дисперсности, но и, как показал лабораторный анализ, содержанием крахмала и белка по сравнению с исходным продуктом. Однако сложность регулирования процесса в классификаторе и невозможность получения более двух фракций требует существенной доработки конструкции, а также оптимизации аэродинамических и кинематических параметров установки.

Параллельно нами велась работа по совершенствованию конструкции спирального классификатора-пылеотделителя, в основе работы которого лежит способ центробежной сепарации мелкодисперсных частиц [Патент 2461410; Терехова, 2015, с. 482], состоящего из корпуса, выполненного в виде сборных спиральных витков трубопровода с бункерами для вывода фракций, расположенных в нижней части каждого витка, функциональная схема которого показана на рисунке.



Функциональная схема спирального классификатора-пылеотделителя:
1 — спираль сборная; 2–4 — бункера для крупной, средней и мелкой фракций

Повышение эффективности отделения от воздуха и сепарации мелкодисперсных частиц обеспечивается благодаря усилению действия центробежных сил при движении аэродисперсного потока в сужающихся по сечению и уменьшающихся в диаметре витках трубопровода и осаждение соответствующих по дисперсности фракций на витке соответствующего диаметра и площади поперечного сечения, при этом количество витков определяется требуемым количеством выделяемых фракций, а минимальный диаметр витка и площадь его поперечного сечения определяются дисперсностью последней фракции.

В лабораторных условиях была испытана установка классификатора-пылеотделителя, конструкция которого создана по принципу строения конической

спирали, изготовленной из прозрачного материала ПВХ П-2-28-10-У ГОСТ 5398-76, применяемого для транспортировки пищевых продуктов, изогнутых в три витка, уменьшающегося радиуса кривизны. Результаты испытания спирального классификатора-пылеотделителя подтвердили теоретические предпосылки. Эффективность, оптимпальная скорость на входе в устройство и распределение продукта по фракциям зависели от сотава и свойств исходной смеси. Так, при разделении муки высшего сорта на фракции максимальная суммарная эффективность отделения от воздуха достигает 96,7% при скорости на входе в спиральный классификатор-пылеотделитель 4 м/с; для продукта с третьей размольной системы — 98% при входной скорости 4 м/с; 99,5% — при входной скорости 5 м/с. При этом количественно пофракрационный состав смеси распределился следующим образом: на первом витке осело около 80% продукта; на втором — 12% и на третьем — около 8% продукта.

Полученные высокие результаты экспериментальных исследований позволяют сделать вывод о целесообразности дальнейших исследований в этом направлении, совершенствование конструкции, увеличение количества отделяемых фракций.

Большой практический интерес представляет собой изучение не только дисперсного, но и химического состава полученных фракций, и, как следствие, возможность применения спирального классификатора-пылеотделителя для получения муки с заданными технологическими свойствами, например повышенным или пониженным содержанием белка или крахмала.

Таким образом, применение предложенного способа центробежной сепарации мелкодисперсных частиц позволяет осуществить увеличение технологической эффективности фракционирования мелкодисперсных фракций с обеспечением очистки воздуха от пыли при снижении энергозатрат и опасности производства.

Формирование продуктов размола на этапе работы разгрузителей благодаря разделению полифракционного аэродисперсного потока позволит не только уменьшить энергоемкость производства муки в целом, но и повысить выход муки высоких сортов. Добиться этой цели можно, совместив транспортные и технологические операции, например, выделяя одну или несколько фракций продукта при использовании многофункциональных технических устройств, таких как пневмоклассификаторы, позволяющих значительно снизить нагрузку на рассевы, пылеотделители, снизить затраты на пневмотранспортирование, повысить пожаровзрывобезопасность на зерноперерабатывающих предприятиях.

Выделение из муки отдельных фракций, отличающихся по дисперсности и составу, является перспективным направлением, позволяющим получать новые разновидности продуктов и хлебобулочных изделий.

Библиографический список

Патент 2461410. Российская Федерация, МКП B01D45/16 , B07B7/08. Способ отделения мелкодисперсных частиц от газовой среды / В.Л. Злочевский, О.Н. Терехова. №2011122175/05; заявл. 31.05.2011; опубл. 20.09.2012.

Терехова О.Н., Глебов А.А. Пути повышения эффективности систем обеспыливания воздуха на зерноперерабатывающих предприятиях // Вестник алтайской науки. 2015. №1 (23). С. 485–488.

Терехова О.Н. Пневмоинерционное сепарирование дисперсных материалов в процессах переработки зерна : монография / Алт. гос. техн. ун-т им. И.И. Ползунова. Барнаул, 2011. 200 с.

Терехова О.Н. Спиральный классификатор-пылеотделитель мелкодисперсных частиц // Вестник алтайской науки. 2015. №1 (23). С. 482–485.

УДК 636.087

Н.Н. Терещенко, А.В. Кравец, Е.Е. Акимова, О.М. Минаева
Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа (Томск, Россия)

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ КОРМОВАЯ ДОБАВКА ДЛЯ ПРУДОВОЙ РЫБЫ НА ОСНОВЕ ПРОДУКТОВ БИОКОНВЕРСИИ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОТХОДОВ МИЦЕЛИЕМ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Предварительный анализ кормовой ценности биологически активной кормовой добавки для рыбы, полученной путем биоконверсии отходов пивоварения грибом *Pleurotus ostreatus* (вешенка) показал, что по содержанию протеина, сырого жира, клетчатки и БЭВ новый продукт соответствует требованиям, предъявляемым к кормам для прудовой рыбы семейства Карповых, а по содержанию фосфора и кальция значительно превосходит стандартные корма.

***Ключевые слова*:** аквакультура, биоконверсия, грибной протеин, отходы пивоварения, костра льна.

N.N. Tereshchenko, A.V. Kravets, E.E. Akimova, O.M. Minaeva
Siberian Research Institute of Agriculture and Peat (Tomsk, Russia)

BIOLOGICALLY ACTIVE FEED ADDITIVE FOR POND FISH BASED ON THE PRODUCTS OF CELLULOSE-CONTAINING AGRICULTURAL WASTE BIOCONVERSED BY MYCELIUM OF HIGHER BASIDIOMYCETES

A preliminary analysis of the nutritional value of biologically active feed additive for fish obtained by bioconversion of brewing waste by *Pleurotus ostreatus* have showed that the content of protein, crude fat, fiber and NFE in the new product meets the requirements of feed for pond fish (Carp family) and the content of phosphorus and calcium is significantly superior to the standard feed.

***Key words*:** aquaculture, bioconversion, mushroom protein, waste brewing, campfire flax.

Обеспечение продовольственной безопасности страны относится к числу наиболее актуальных проблем современной России. При этом в качестве одного из путей решения данной проблемы планируется увеличение поддержки тех секторов сельского хозяйства, которые в стране либо плохо развиты, либо не развиты совсем. К таким отраслям можно отнести и аквакультуру. Как известно, в настоящее время мировое рыболовство подошло к черте, за которой наращивать объемы вылова крайне сложно, а доступная сырьевая база отечественного рыболовства ограничена 4–4,5 млн т рыбы в год.

Россия производит на сегодняшний день 0,2% мировой продукции аквакультуры, что составляет 130–140 тыс. т, тогда как объем производства индустриальной рыбы у безусловного лидера в развитии аквакультуры — Китая — за последние 20 лет утроился и достиг 43 млн т.

Анализируя сильные и слабые стороны рассматриваемой отрасли, к числу особенно сложных проблем аквакультуры следует отнести недостаточную проработку вопросов возникновения и профилактики распространения опасных болезней прудовой рыбы, ведущих к высокой смертности молодняка рыбы: потери составляют в Канаде $25 млн, Шотландии — $30–50, Японии — $125 млн, в Азии в целом — $3 млрд. В первую очередь это болезни, вызываемые бактериями, простейшими

и грибками, а также патологии, индуцируемые неблагоприятными стрессорными факторами окружающей среды и высокой плотностью популяции рыб при их индустриальном выращивании.

По данным Рыбного союза РФ вторым по значимости сдерживающим фактором развития отрасли в России также является почти тотальная импортозависимость по кормам. Поиск высокоэффективных и экологически безопасных альтернатив импортным кормам обусловлен также высокой вероятностью содержания в импортных премиксах веществ антибиотической и/или гормональной природы.

Как известно, для производства кормов для индустриального рыбоводства чаще всего используют разнообразные зерновые культуры, а также дешевые отходы пищевых производств. Одним из наиболее важных и одновременно дефицитных компонентов кормов является протеин. В качестве источника протеина и незаменимых аминокислот наряду с промышленными препаратами аминокислот часто используют отходы переработки рыбы, к тому же богатые ценными полиненасыщенными жирными кислотами.

Кроме того, одним из эффективных способов решения проблемы кормового белка, на наш взгляд, является его получение биотехнологическим путем, в частности, биоконверсией пищевых и целлюлозосодержащих сельскохозяйственных отходов высшими съедобными грибами. В соответствии с этим целью наших исследований была разработка способа получения новой белковой кормовой добавки для рыб сем. Карповых на основе продуктов биоконверсии отходов пивоварения (пивной дробины и биомассы пивных дрожжей) мицелием *Pleurotus ostreatus* (вешенка) и изучение ее кормовой ценности.

Пивная дробина вкупе с отработанной биомассой пивных дрожжей принадлежит к числу наиболее массовых отходов пивоваренной промышленности и одновременно является одним из наиболее перспективных органических субстратов для культивирования мицелия высших базидиальных грибов, так как содержат все необходимые компоненты для их роста.

Как известно, биомасса вешенки содержит до 65–70% сырого протеина и 15–25% белка с 70–80% уровнем перевариваемости. Кроме того, входящий в состав кормовой добавки мицелий вешенки будет оптимизировать рацион рыбы такими важными для организма рыб незаменимыми аминокислотами, как валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин, а также витаминами: тиамином (B1), рибофлавином (B2), эргокальциферолом (D2), аскорбиновой кислотой (C), никотиновой кислотой (PP), токоферолом (E) [Пивень, Ермолаева, 1988, с. 10–16]. В составе биомассы вешенки прудовая рыба будет получать основные макро- и микроэлементы (фосфор, железо, кальций, цинк, кобальт, селен, медь). При этом продуцируемые грибным мицелием целлюлозолитические ферменты будут способствовать повышению усвояемости грубых компонентов корма при одновременном его употреблении с микормом.

Мицелий вешенки также отличается выраженной физиологической активностью, так как содержит полисахариды из разряда ß-глюканов (лентинан), обладающие противоопухолевым и иммуномодулирующим действием, эфирные масла и стерины, не синтезируемые организмом млекопитающих, хитин и маннит, способные адсорбировать из организма животных радионуклиды и токсичные вещества. Учитывая это, можно предположить, что разрабатываемая на основе вешенки кормовая добавка обеспечит повышение резистентности организма рыб как к неблагоприятным погодным факторам, так и к стрессу, вызванному повышенной плотностью популяции рыб при их искусственном разведении. Так, согласно данным Dibyendu Kamilya et al. [Dibyendu Kamilya et al., 2008, p. 40–42] введение в ра-

цион рыб сем. Карповых (*Catla catla*) глюкана, предварительно экстрагированного из биомассы вешенки флоридской, в дозе 1 г/кг корма способствовало статистически значимому увеличению выживаемости рыбы по инфекционному фону патогенных бактерий *Aeromonas hydrophila,* введенных в брюшную полость рыб.

В работах E. Eleftherios, M.G. Vassilis и I. Cleanthes [2014, p. 16–17] продемонстрирована выраженная способность вешенки устричной оказывать физиологические эффекты и модулировать иммунные функции. О наличии противоопухолевых веществ в биомассе вешенки устричной также свидетельствуют работы Min Zhang с соавт. [2009, p. 1406–1407] и O. Rop с соавт. [2009, p. 624–627].

Помимо этого, применение микорма на основе мицелия вешенки в аквакультуре также будет способствовать снижению риска распространения инфекционных заболеваний, вероятность возникновения которых резко возрастает в условиях массового разведения монопопуляции рыб в сходной возрастной категории. О высокой эффективности использования β-1.3/1.6-D-глюканов из вешенки устричной (*Pleurotus ostreatus*) для снижения риска развития инфекций и отсутствии нежелательных побочных эффектов (по данным гематологических и гистологических показателей) для организма карповых рыб свидетельствуют также работы R. Dobsikova [Dobsikova et al., 2013. p. 1819–1820].

Результаты проведенных нами исследований позволили подобрать оптимальное соотношение пивной дробины, жидких пивных дрожжей и минеральных компонентов для обеспечения высокой скорости роста мицелия вешенки устричной и необходимой степени трансформации субстрата (рис.).

Интенсивность роста мицелия *Pleurotus ostreatus* на субстрате, содержащем отходы пивоварения

Анализ кормовой ценности полученной кормовой добавки показал, что по содержанию протеина, сырого жира, клетчатки и БЭВ новый продукт соответствует требованиям, предъявляемым к кормам для прудовой рыбы семейства Карповых, а по содержанию фосфора и кальция новая кормовая добавка значительно превосходит стандартные корма (табл.).

Помимо высокой кормовой ценности получаемого продукта, нужно также отметить, что немаловажным достоинством производства кормового белка для аквакультуры на основе грибного мицелия является возможность использования дешевого сырья — сельскохозяйственных отходов, а также возможность организации масштабного промышленного производства вне зависимости от сезона и погодно-климатических условий.

Кормовая ценность экспериментальной кормовой добавки, полученной путем биоконверсии отходов пивоварения мицелием вешенки устричной (*Pleurotus ostreatus*) в сравнении с рецептом корма, рекомендуемого для рыб сем. Карповых, %

Показатель	Рекомендуемый для товарной рыбы карпа	В составе экспериментальной кормовой добавки на основе мицелия вешенки
Сырой протеин, не менее	23–26	23,0
Сырой жир, не менее	3,5	4,7
Клетчатка, не более	10	16,5
БЭВ, не менее	15–25	28,9
Зола, не более	5–14	17,9
Массовая доля кальция, не менее	0,7	5,1
Массовая доля фосфора, не менее	0,8	1,4

Разработка и введение в состав базовых кормов для рыбы отечественных кормовых добавок, обеспечивающих повышение сохранности молоди рыбы и увеличение темпов ее роста, будет способствовать снижению затрат на выращивание рыбы, уменьшение рисков для здоровья человека как конечного потребителя, сокращению зависимости отечественной аквакультуры от поставок импортного сырья и в целом обеспечит повышение эффективности аквакультуры.

Библиографический список

Пивень И.О., Ермолаева В.Н. Выращивание шампиньонов и вешенки. Львов, 1988. 89 с.

Dobsikova R., Blahova J., Mikulikova I., Modra H., Praskova E., Svobodova Z., Skoric M., Siwicki A.K. The effect of oyster mushroom b-1.3/1.6 –D-glucan and oxytetracycline antibiotic on biometrical, haematological, biochemical, and immunological indices, and histopathological changes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) // Fish Shellfish Immunology. 2013. Issue 6. P. 1813–1823.

Eleftherios E., Vassilis M.G., Cleanthes I. The Potential Use of Mushrooms ß- Glucans in the Food Industry // International Journal of Biotechnology for Wellness Industries. 2014. Issue 3. P. 15–18.

Kamilya D., Joardar S.N., Mal B.C., Maiti T.K. Effects of a Glucan from the Edible Mushroom (*Pleurotus florida*) as an Immunostimulant in Farmed Indian Major Carp (*Catla catla*) // The Israeli Journal of Aquaculture — Bamidgeh. 2008. Vol. 60, Issue 1. P. 37–45.

Min Zhang, Jian Huang, Xing Xie, C.D'Arcy Holman J. Dietary intakes of mushrooms and green tea combine to reduce the risk of breast cancer in Chinese women // International Journal of Cancer. 2009. Vol. 124, Issue 6. P. 1404–1408.

Rop O., Mlcek J., Jurikova T. Beta-glucans in higher fungi and their health effects // Nutrition Reviews. 2009. Vol. 67, Issue 11. P. 624–631.

УДК 582.579.2:615.32

Л.И. Тихомирова

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ДЕКОРАТИВНОМ САДОВОДСТВЕ НА ПРИМЕРЕ *IRIS SIBIRICA* L.

Для культуры *I. sibirica* на этапе собственно микроразмножения необходимо чередовать среды с высоким содержанием цитокинина и низким. При этом в питательные среды с низким содержанием фитогормона следует добавить L-глютамин и аденин

сульфат в количестве 100 мг/л. Введение негормональных стимуляторов роста в питательные среды оказывает положительное влияние на качество развивающихся побегов и способствует их укоренению.

Ключевые слова: микроклональное размножение, тип экспланта, регенерация, идентификация, схема культивирования, питательные среды, *I. Sibirica.*

L.I. Tikhomirova

Altai State University (Barnaul, Russia)

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS IN ORNAMENTAL HORTICULTURE ON THE EXAMPLE OF *IRIS SIBIRICA* L.

For crop *I. sibirica*, at the stage of private micropropagation, it is necessary to alternate media with high content of cytokinin with low one. It is desirable to add L-glutamin and adenine sulphate in nutritional media with low content of phytohormones in a quantity of 100 mg/l. Application of unhormonal growth stimulators in nutritional media influences well on the quality of the developed shoots and helps their rooting.

Key words*:* microclonal propagation, type of explants, regenerators, identity, cultivation diagram, nutritional media, *I. sibirica.*

По данным профессора, заведующего кафедрой декоративного садоводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева Александра Викторовича Исачкина [2011] число основных декоративных культур, выращиваемых в Европе, составляет около 4 тысяч родов, в том числе плаунов — 4, папоротников — 164, голосеменных — 64, покрытосеменных двудольных — 2676, покрытосеменных однодольных — 1085. Точное число выращиваемых сортов декоративных растений в Европе трудно оценить, но оно составляет не менее 10–15 тысяч. Отечественный реестр селекционных достижений включает 2,5% декоративных культур, выращиваемых в Европе. По сортам эта доля составляет 6–9%. Эти цифры трудно объяснить, даже учитывая более суровые природно-климатические условия большинства территорий Российской Федерации.

Причины такой катастрофической ситуации с отечественной селекцией декоративных растений, по мнению А.В. Исачкина, многообразны. К ним относится отсутствие: 1) государственного и социального заказа на создание сортов отечественной селекции; 2) координации и планирования научно-исследовательских работ по селекции декоративных культур на всех уровнях; 3) заинтересованности питомниководов в выращивании и пропаганде сортов декоративных культур отечественной селекции и др. Важно понять причину, почему российские питомниководы не заинтересованы в выращивании сортов отечественной селекции. Ирисы принадлежат к числу наиболее популярных в цветоводстве травянистых многолетников. Многочисленные виды семейства *Iridaceae* стали размножать в культуре *in vitro* с тех пор, как классические способы вегетативного размножения с помощью корневищ и луковиц перестали удовлетворять потребности в количестве посадочного материала [Ahmad Al-gabbiesh et al., 2006]. Помимо коммерческих целей, микроразмножение некоторых эндемических видов ириса проводилось с целью их сохранения [Randolph, 1945; Hussey, 1976; Radojevicand et al., 1987; Laublin, Cappadocia, 1992; Shimizu et al., 1996; Hida et al., 1999].

На сегодняшний день сорта *I. sibirica* в культуре *in vitro* остаются малоизученными объектами. В современной литературе есть сведения об использовании семян и зародышей в качестве первичных эксплантов, что не приемлемо для микроразмножения сортов [Ишмуратова, Рахимова, 1999]. Описание состава питательных

сред и схем культивирования для длительно пассируемой культуры *I. sibirica* в доступной нам литературе не обнаружено.

Цель данной работы — оптимизировать питательные среды и схему культивирования *Iris sibirica* L. при длительном размножении в культуре *in vitro* для получения качественного посадочного материала.

Условия эксперимента. Объекты исследований — перспективные сорта ириса сибирского (*I. sibirica* L.) селекции НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко (Барнаул).

Экспериментальные работы с использованием метода культуры тканей проведены по общепринятым методикам [Калинин, 1980]. Растительные ткани культивировали на питательных средах MS [Murashige and Skoog, 1962]. Питательные среды дополняли фитогормонами цитокининового типа действия — 6-бензиламинопурином (6-БАП) и ауксинового типа действия — α-нафтилуксусной кислотой (НУК).

При микроразмножении *I. sibirica* применяли питательные среды, содержащие 2.5, 5, 7.5 и 10 мкм 6-БАП. Были использованы негормональные стимуляторы роста L-глютамин (L-гл.) и аденин сульфат (а.с.) в количестве 100 мг/л. Микропобеги культивировали по следующим схемам: а) пассажи без чередования сред; б) пассажи с чередованием сред с высокой и низкой (1 мкМ 6-БАП + L-гл. + а.с.) концентрацией цитокинина. В качестве контроля была использована питательная среда, содержащая 1 мкМ 6-БАП.

Основными показателями, определяющими эффективность размножения, служили число микропобегов (пазушных и адвентивных), образовавшихся *de novo* в течение одного пассажа, и их длина. При умножении этих показателей получали общую высоту растений. Растения выращивали в лабораторных условиях при искусственном освещении (2000–4000 лк) в условиях фотопериода: 16/8 часов свет/темнота и температуре 24–26 °С.

Статистическая обработка данных выполнена в MS Excel 2007 с использованием стандартных показателей.

Результаты и обсуждение. У изученных сортов *I. sibirica* при длительном культивировании (более 16 пассажей) на средах, где содержание 6-БАП было 7,0 мкМ и более, отмечено резкое снижение коэффициента размножения до 1,0, растения прекращали размножаться. При 10,0 мкМ 6-БАП появлялись морфологически измененные формы в виде конгломератов с истонченными и уродливыми побегами. Такие образования практически невозможно было разделить на отдельные побеги, и в дальнейшем они не укоренялись.

В ряде работ с различными видами растений показано, что аминокислоты, добавленные в состав питательной среды как в виде смеси неопределенного состава (гидролизат казеина), так и в чистом виде, часто оказываются необходимыми для стимуляции регенерационных и ростовых процессов [Вечернина, 2004]. Н.А. Вечерниной изучено совместное присутствие в питательной среде 6-БАП и предшественника цитокининов — аденин сульфата (а.с). Оказалось, что их совместное действие обнаруживает синергизм. Установлено, что целесообразно вводить в состав питательной среды 1мкМ 6-БАП и 100 мг/л а.с. Указанные концентрации регуляторов роста при микроразмножении клематисов приводили к трехкратному увеличению коэффициента размножения по сравнению с использованием только 1 мкМ 6-БАП или к полуторакратному увеличению этого показателя по сравнению с использованием большей концентрации 6-БАП (2 мкМ).

По мнению некоторых авторов, L-глютамин также играет важную роль в качестве вещества, предотвращающего вредное воздействие аммиака, образующегося при длительном культивировании эксплантов *in vitro* [Авганова, 2006].

Нами разработана схема культивирования *I. sibirica* на этапе собственно микроразмножения, включающая в себя чередование питательных сред, содержащих L-глютамин и аденин сульфат в количестве 100 мг/л, и сред без этих добавок. Варианты опыта отличались по содержанию 6-БАП (2,5; 5,0; 7,5 и 10,0 мкМ). Во всех вариантах опыта было увеличение общей высоты растений, при чередовании сред, содержащих негормональные стимуляторы роста. Исключением явился вариант при содержании 2,5 мкМ 6-БАП без чередования в 1–5 пассажах. Общая высота растений была больше, чем на средах с чередованием с L-глютамином и аденин сульфатом. Далее на протяжении первых пассажей высота растений на средах с добавками стабилизировалась в пределах 120 мм, независимо от концентрации цитокинина. Побеги *I. sibirica* были выровненными, хорошего качества. В последующих 6–8 пассажах L-глютамин и аденин сульфат усиливали рост и стимулирующее действие фитогормона при концентрации 6-БАП в пределах 2,5 и 5,0 мкМ, а при высоких концентрациях цитокинина — 7,5–10,0 мкМ несколько сглаживали его токсическое действие.

При долгом культивировании на 10,0 мкМ 6-БАП появлялись побеги ириса сибирского с измененной морфологией. При использовании чередования сред с негормональными добавками такое явление не наблюдалось. На протяжении всего этапа собственно микроразмножения *I. sibirica* было отмечено влияние негормональных стимуляторов регенерационных процессов L-глютамина и аденин сульфата на увеличение как коэффициента размножения, так и высоты растений, а соответственно, и общей высоты растения.

Сделав определенные выводы, мы решили сочетать схему культивирования, основанную на чередовании питательных сред с различной концентрацией 6-БАП, и использование негормональных стимуляторов роста L-глютамина и аденин сульфата. Данный способ культивирования оказал влияние на показатели этапа укоренения у сортов *I. sibirica* (табл.).

Влияние состава питательных сред и схем культивирования на показатели развития растений этапа собственно микроразмножения и этапа укоренения для сортов *I. sibirica*

Состав мкМ и номер среды	Варианты опыта	Этап собственно микроразмножения		Этап укоренения		
		число побегов	высота растения, мм	высота растения, мм	число корней	длина корней, мм
6-БАП 1,0	контроль	1,0	90,0±2,15	82,0±3,81	3,3±0,15	13,03±0,92
6-БАП 2,5 (98)	1/1 (98→78)	**1,44±0,24**	**63,18±1,37**	**87,33±9,0**	**5,12±0,7**	**19,93±1,57**
	1/2	1,33±0,14	59,16±2,26	48,25±7,02	1,66±0,23	7,8±2,14
6-БАП 5,0 (100)	2/1 (100→78)	**1,9±0,38**	**83,33±2,32**	**92,0±3,28**	**4,11±0,13**	**14,5±0,15**
	2/2	1,5±0,17	53,0±1,36	81,0±9,6	2,23±0,09	13,7±0,12
6-БАП 7,5 (117)	3/1 (117→78)	**1,68±0,22**	**61,94±4,69**	**69,75±8,09**	**7,05±0,15**	**17,3±2,37**
	3/2	1,15±0,1	115,0±8,66	106,0±6,91	2,12±0,11	19,28±2,02
6-БАП 10,0 (137)	4/1 (137→78)	1,0	43,33±6,64	65,43±7,09	3,09±0,18	15,33±2,28
	4/2	1,0	45,0±6,2	45,33±5,09	1,8±0,25	9,0±1,35

Примечания: питательная среда 78 — MS + 1 мкМ 6-БАП+ L-глютамин +аденин сульфат 100 мг/л. Значения выше средних величин по всем показателям выделены жирным шрифтом.

Заключение. При длительном культивировании сортов и гибридов *I. sibirica* оптимальными являются питательные среды с 2,5–7,5 мкМ 6-БАП в сочетании с 0,1 мкМ НУК и 0,1 мкМ ИМК. При этом необходимо через один пассаж побеги пересаживать на среду, содержащую 1,0 мкМ 6-БАП, дополненную L-глютамином и аденин сульфатом в количестве 100 мг/л. Данная схема культивирования позволяет иметь стабильный коэффициент размножения 2,0 при высоте растений 80–85 мм. Такие микропобеги лучше укореняются и растут на следующих этапах микроклонального размножения.

Библиографический список

Авганова Х.Х., Мирзохонова Г.О., Назарова Н.Н., Файзиева С.А., Салимов А.Ф., Алиев К.А. Физиолого-биохимические особенности термоустойчивых растений-регенерантов картофеля // Доклады АН РТ. 2006. Т. 49, №5–6. С. 468–475.

Вечернина Н.А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений. Барнаул, 2004. 205 с.

Исачкин А. О состоянии декоративных культур в России [Электронный ресурс]. URL: http://www.ruspitomniki.ru/articles/page207.php.

Ишмуратова М.М., Рахимова А.Ф. Использование культуры *in vitro* для размножения гибридов *Iris* L. // Растительные ресурсы. 1999. №4. С. 74–78.

Калинин Ф.А., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев, 1980. 488 с.

Ahmad Al-gabbiesh, Dhia S. Hassawi, Fatma U. Afifi. *In vitro* propagation of Endagered *Iris* Species // Journal of Biological Sciences. 2006. №6 (6). P. 1035–1040.

Hida A., Shimizu K., Nagata R., Yabuya T., Adachi T. Plant regeneration from protoplasts of *Iris hollandica* // Hort. Euphytica. 1999. Vol. 105. P. 99–102.

Hussey G. Propagation of Dutch iris by tissue culture // Sci. Hortic. 1976. V. 4. P. 163–165.

Jevremovic S. Subottic A., Trifunovic M., Nikolic M. Plant regeneration of southern Adriatic *iris* by somatic embryogenesis // Arch. Biol. Sci. – Belgrade. 2009. Vol. 61 (3). P. 413–418.

Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassaya with Tobacco Tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15, №4. P. 473.

Laublin G., Cappadocia M. *In vitro* ovary culture of some apogon garden irises (*I. pseudacorus, I. setosa* и *I. versicolor)* // Bot Acta. 1992. Vol. 105. P. 319–322.

Radojevic L., Sokic O., Tucic B. Somatic embryogenesis in tissue culture of iris (*Iris pumila* L.) // Acta Hort. 1987. Vol. 212. P. 719–723.

Randolph L.F. Embryo culture of *Iris* seed // Bull Am Iris Soc. 1945. Vol. 98. P. 33–45.

Shimizu K., Yabuya T., Adachi T. Plant regeneration from protoplasts of *Iris germanica* L. // Euphytica. 1996. Vol. 89. P. 223–227.

УДК 547.99:581.143.6

Л.И. Тихомирова, Н.Г. Базарнова, Н.С. Фролова, А.Е. Павлушин, Е.А. Курчанова
Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

РОСТСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА МОРФОГЕНЕЗ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ КУЛЬТУР *IN VITRO*

Введение стимулятора роста растительного происхождения (КМД) в питательные среды на этапе укоренения оказывало стимулирующее действие на геммо- и ризогенез у ириса сибирского и копеечника чайного. На основании полученных данных физиологическое действие данного стимулятора можно отнести к ауксиновому типу. Опыты по изучению влияния на морфогенез сирени необходимо продолжить. Отмечен поло-

жительный эффект от введения КМД в питательные среды у ряда растений в коллекции *in vitro.*

Ключевые слова: стимулятор роста, морфогенез *in vitro*, геммогенез, ризогенез, ауксины, *Iris sibirica*, *Syringa vulgaris*, *Hedysarum teinum*.

L.I. Tikhomirova, N.G. Bazarnova, N.S. Frolov, A.E. Pavlushin, E.A. Kurchanova
Altai State University (Barnaul, Russia)

GROWTH-STIMULATING ACTIVITY OF THE DRUG OF PLANT ORIGIN ON THE MORPHOGENESIS OF COMMERCIALLY VALUABLE CULTURES *IN VITRO*

The introduction of a growth stimulant plant origin (KMD) in the nutrient medium on the rooting phase was stimulating on gamma — and rhisogenesis Siberian iris and Hedysarum tea. Based on these data, the physiological effects of this stimulant can be attributed to auxin-type. Experiments to study the effects on the morphogenesis of lilacs should continue. Marked positive effect from the introduction of the KMD in the nutrient medium of a number of plants in the collection *in vitro*.

Key words: Stimulator of growth, morphogenesis *in vitro*, Hermogenes, rhisogenesis, auxins, Iris sibirica, Syringa vulgaris, Hedysarum teinum.

Фитогормоны — органические сравнительно низкомолекулярные соединения, с помощью которых осуществляется взаимодействие клеток, тканей и органов, которые в малых количествах необходимы для запуска и реализации физиологических программ [Полевой, 1982; Чайлахян,1982].

Выделяют пять групп классических фитогормонов: ауксины (производные индола, основной природный ауксин — гетероауксин; в эту группу также входят ИУК — 3-индолилуксусная кислота, НУК — α-нафтилуксусная кислота, 2,4-Д — дихлорфеноуксусная кислота), цитокинины (производные 6-аминопурина, основной природный цитокинин — зеатин; в эту группу также входят кинетин и 6-бензиламинопурин), гиббериллины (тетрациклические карбоновые кислоты класса дитерпеноидов, наиболее распространен гиббереллин А3, или гибберелловая кислота), абсцизины (абсцизовая кислота (АБК) — оптически активный сесквитерпиноид) и этилен (бесцветный газ, ненасыщенный углеводород с двойной связью) и др. [Полевой,1982; Кулаева, 1962; Кулаева, 1973; Кулаева, 1982; Кулаева, 1995; Чуб, 2003].

Ауксины являются обязательными участниками координации процессов морфогенеза, оказывающими влияние на деление, рост и дифференциацию клеток. Эти фитогормоны необходимы прежде всего для инициации репликации ДНК. Под влиянием ауксинов продолжительность различных периодов митотического цикла уменьшается, что приводит к значительному ускорению темпов размножения клеток [Полевой, 1982; Кулаева, 1973; Кулаева, 1982; Кулаева, 1995; Чуб, 2003].

Большое количество ауксинов в тканях — это сигнал о росте побегов: растению требуется больше воды и минеральных веществ, т.е. оно должно образовывать большее число корней. Ауксины стимулируют ризогенез — закладку придаточных корней на стебле и боковых корней на главном корне. Ауксины считаются одними из основных гормонов растений. Это привлекает многих ученых к исследованию их роли и механизма действия. [Чуб, 2003; Кравец, 2008].

Цель работы — изучить влияние стимулятора роста растительного происхождения (КМД) на морфогенез *Iris sibirica* L., *Hedysarum teinum* Krasnob. и *Syringa vulgaris* L. в культуре *in vitro*.

Объекты, материалы и методы. Объекты исследований — растения-регенеранты ириса сибирского сорт Лаула, сирени сорт Огни Донбасса и *Hedysarum teinum* Krasnob (копеечник чайный).

Экспериментальные работы с использованием метода культуры тканей проведены по общепринятым методикам [Бутенко, 1990]. Растительные ткани культивировали на питательных средах MS [Murashige and Skoog, 1962].

Для постановки опыта готовили среды на минеральной основе ½ MS. Использовали синтетические фитогормоны ауксинового типа действия: ИУК (3-индолилуксусную кислоту), НУК (α-нафтилуксусную кислоту), ИМК (3-индолилмасляную кислоту) в количестве 3 мкМ, или примерно 0,6 мг/л. Негормональный стимулятор роста КМД брали в концентрации 25, 50 75, 100 мг/л. В качестве контроля побеги высаживали на безгормональные среды на основе ½ MS. В каждом варианте опыта выращивали по 20 растений, число повторностей было равно 3. Изучали влияние КМД на число побегов, высоту побегов, число корней и длину корней на этапе укоренения. Перемножая число побегов на их длину, получали общую длину побегов. Число корней, умноженное на длину, давало общую длину корней.

Растения содержали в лабораторных условиях при искусственном освещении (2000–4000 лк) в условиях фотопериода: 16/8 часов свет/темнота и температуре 24–26 °С.

Статистический анализ проводили в MS Excel 2007 с использованием стандартных показателей [Доспехов, 1979; Зайцев, 1990].

Результаты и их обсуждения. Этап укоренения на питательных средах микроклонально размноженных растений является, несомненно, важным этапом в получении качественного посадочного материала. Предварительно укорененные побеги лучше переносят процесс начальной адаптации. На этапе укоренения часто применяют среду Мурасиге и Скуга. Но при этом обычно изменяют основной состав за счет уменьшения в два раза количества минеральных солей. Корнеобразование стимулируют добавлением в среду ауксинов, полностью, исключая цитокинины. При низких концентрациях ауксины инициируют ризогенез, а при высоких преобладает образование каллуса. При отсутствии или экономии ауксинов укоренение можно проводить и на безгормональной среде.

Ирис сибирский относится к легкоукореняемой культуре. При введении КМД в среды величина количественных показателей этапа укоренения зависела от концентрации стимулятора. На низких концентрациях (25, 50 мг/л) данные показатели незначительно превышали контроль. Увеличение содержания КМД (75, 100 мг/л) приводило к увеличению числа побегов на 10%, высоты побегов — на 30%, числа корней — на 31% и длины корней — на 35% по сравнению с контролем. Формирующаяся на безгормональной среде корневая система регенерантов характеризовалась слабым развитием и отсутствием корней второго порядка. По этой причине регенеранты имели небольшую площадь питания и слабую поглотительную способность, что в свою очередь отрицательно сказалось на этапе их адаптации к нестерильным условиям (табл. 1).

При сравнении влияния КМД на органогенез ириса с действием синтетических фитогормонов отмечали незначительное увеличение показателей под действием негормонального стимулятора роста. Действие КМД на регенеранты ириса сибирского можно отнести к ауксиновому типу. КМД стимулировал ризогенез — закладку придаточных корней на побеге и боковых корней на главном корне. Растения-регенеранты развивали мощную корневую систему, легко проходили этап адаптации к нестерильным условиям. Число побегов было практически равно контролю, что говорит о влиянии остаточного количества цитокинина в тканях регенеранта, введенного в среды размножения [Пищева, Тихомирова, 2012].

Таблица 1

Влияние стимуляторов роста на показатели этапа укоренения ириса сибирского сорт Лаула

Гормональный состав питательной среды	Геммогенез			Ризогенез		
	число побегов	высота побегов, мм	общая высота побегов, мм	число корней	длина корней, мм	общая длина корней, мм
Контроль, без гормонов	6,8 ± 0,5	57,8 ± 2,6	393,0	4,8 ± 0,4	24,2 ± 2,2	116,2
25 мг/л КМД	7,0 ± 0,5	64,6 ± 2,8	452,2	4,8 ± 0,3	26,0 ± 2,0	124,8
50 мг/л КМД	7,0 ± 0,5	72,5 ± 2,9	507,5	4,9 ± 0,3	25,9 ± 2,3	126,9
75 мг/л КМД	7,4 ± 0,5	73,6 ± 3,0	**544,6**	5,9 ± 0,3	32,6 ± 2,0	**192,3**
100 мг/л КМД	7,5 ± 0,5	76,0 ± 2,6	**570,0**	6,3 ± 0,4	32,8 ± 2,1	**206,6**
3мкМ НУК	7,9 ± 0,8	71,6 ± 2,3	**565,6**	6,1 ± 0,4	25,6 ± 1,4	**156,2**
3 мкМ ИМК	7,1 ± 0,7	76,5 ± 3,1	**543,2**	6,2 ± 0,6	29,8 ± 2,0	**184,8**
Среднее			530,5			158,3

Примечание: полужирным шрифтом выделены показатели выше средних значений.

Копеечник чайный (*Hedysarum teinum*) является трудноразмножаемым объектом в культуре *in vitro*. Для данного вида характерно низкое значение числа укорененных побегов. По результатам опыта можно сказать, что геммогенез и ризогенез у копеечника на средах, содержащих КМД, проходили на том же уровне, что и на средах с синтетическими гормонами. Но, учитывая высокую стоимость синтетических фитогормонов, использование КМД экономически более выгодно.

Процент укоренившихся растений в пределах опыта был 23,0–49,9. Содержание в питательной среде 75 мг/л было выбрано в результате опыта, так как данный препарат ранее не был испытан на культурах при микроразмножении вообще, на копеечнике в частности. Следует отметить положительное влияние КМД на длину корней, что не характерно для синтетических фитогормонов. Общая длина корней под действием КМД увеличилась в 5,3 раза по сравнению с контролем и в 2,5 по сравнению с действием синтетических ауксинов (табл. 2).

Таблица 2

Влияние гормональных и негормонального стимуляторов роста на морфогенез *Hedysarum teinum* на этапе укоренения

Гормональный состав питательной среды, мкМ	Геммогенез			Ризогенез		
	число побегов	высота побегов, мм	общая высота побегов, мм	число корней	длина корней, мм (% укоренения)	общая длина корней, мм
Контроль, без гормонов	1,15±0,04	40,7±2,2	46,8	1,6±0,3	14,3±1,0 (23%)	22,9
3 мкМ ИУК	1,2±0,02	48,7 ±6,2	58,6	3,4±0,4	11,6±0,8 (40,8%)	39,4
3 мкМ НУК	1,25±0,06	40,7±2,7	50,9	4,0±0,4	12,9±0,9 (49,9%)	51,0
3 мкМ ИМК	1,4±0,1	35,2±2,0	49,3	3,2±0,4	14,4±0,8 (40,3%)	46,08
КМД 75 мг/л	1,0	45,8±3,1	45,8	3,7±0,1	33,1±5,4 (42,8%)	**122,4**

Примечание: полужирным шрифтом выделены показатели выше средних значений.

Сирень. Изучая действие стимуляторов роста на геммогенез и ризогенез сирени, мы отмечали усиление корнеобразования под действием синтетических ауксинов НУК и ИМК. Число корней на средах с ауксинами превышало контроль на 1,5–1,7 раз, при этом длина корней была ниже, чем в контроле. При использовании КМД в количестве 25–100 мг/л не отмечали усиления регенерационных процессов по сравнению с контролем. Было отмечено на средах с КМД (75 и 100 мг/л) явление угнетения: низкий тургор ткани, некроз листьев, число побегов равно 1.0, число корней в два раза ниже, чем в контроле. На средах с концентрацией 25–50 мг/л показатели гемо- и ризогенеза были на уровне контроля. Вероятно, необходимо продолжить испытания КМД, используя более низкие концентрации (табл. 3).

Таблица 3

Влияние гормональных и негормонального стимуляторов роста на морфогенез сирени сорта Огни Донбасса на этапе укоренения

Гормональный состав питательной среды	Геммогенез			Ризогенез		
	число побегов	высота побегов, мм	общая высота побегов, мм	число корней	длина корней, мм	общая длина корней, мм
Контроль, без гормонов	1,2±0,4	35,4±4,2	40,71	3,7±0,5	36,7±4,5	135,8
25 мг/л КМД	1,3±0,2	30,0±2,2	37,5	4,0±0,6	25,9±2,2	103,6
50 мг/л КМД	1,3±0,5	30,0±1,7	39,9	3,3±0,5	30,8±1,7	102,6
75 мг/л КМД	1,0	37,5±6,5	37,5	2,0±0,5	18,6±9,5	37,2
100 мг/л КМД	1,2±0,1	24,9±3,3	28,9	3,2±0,5	24,6±4,5	77,7
3мкМ НУК	1,1±2,6	35,6±4,4	40,6	6,3±2,4	16,6±6,3	104,3
3 мкМ ИМК	1,8±0,1	28,7±9,2	33,9	5,3±0,65	18,3±3,2	93,7

Технологии клонального микроразмножения представляют исключительную ценность для поддержания и сохранения коллекций, особенно в тех случаях, когда вид или сорт представлен ограниченным количеством экземпляров. Для сохранения культур в коллекции используют питательные среды с низким содержанием фитогормонов. На безгормональных средах растения гибнут. Для этих целей мы использовали КМД в количестве 50 мг/л. Необходимо отметить, что побеги *Iris sibirica*, *Potentilla alba*, *Hedysarum teinum*, *Potentilla fragarioides* в течение шести месяцев на данной среде находятся в стадии умеренного роста.

Заключение. Введение стимулятора роста растительного происхождения (КМД) в питательные среды на этапе укоренения оказывало стимулирующее действие на геммо- и ризогенез у ириса сибирского и копеечника чайного. На основании полученных данных физиологическое действие данного стимулятора можно отнести к ауксиновому типу. В отличие от синтетических гормонов КМД не только увеличивал число корней, но и усиливал рост побегов и корней в длину. Отмечен положительный эффект от введения КМД в питательные среды у ряда растений в коллекции *in vitro*.

Библиографический список

Бутенко Р.Г. Состояние и перспективы изучения морфогенеза растений // Всесоюз. об-во физиологов раст. 1990. Вып. 8. С. 5–8.

Доспехов Б.Д. Методика полевого опыта. М., 1979. 416 с.

Зайцев Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. М., 1990. 296 с.

Кравец В.С., Колесников Я.С., Кузнецов В.В., Романов Г.А. Регуляторы роста растений: внутриклеточная гормональная регуляция и применение в аграрном производстве // Физиология растений. Т. 55. 2008. С. 629–640.

Кулаева О.Н. Гормональная регуляция физиологических процессов у растений на уровне синтеза РНК и белка. М., 1982. 159 с.

Кулаева О.Н. Физиология растений. М., 1995. 661 с.

Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции. М., 1973. 105 с.

Кулаева О.Н., Воробьёва И.П. К вопросу о механизме действия кинетина на синтез белка // Физиология растений. 1962. Т. 9, вып. 1. С. 106–108.

Пищева Г.Н., Тихомирова Л.И. Изучение влияние 6-БАП в средах размножения на показатели этапа укоренения у ириса // Плодоводство и ягодоводство России. 2012. Т. XXXI, №2. С. 134–139.

Полевой В.В. Фитогормоны. Л., 1982. 248 с.

Чайлахян М.Х. Гормональная регуляция роста и развития высших растений // Успехи современной биологии. 1982. Т. 95, вып. 1. С. 70–75.

Чуб В.А. Рост и развитие растений. 2003 [Электронный ресурс]. URL: http: herba.msu.ru/russian.

Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassaya with Tobacco Tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15, №4. P. 473.

УДК 581.143.6:582.734

Л.И. Тихомирова, А.И. Шмаков, А.А. Кечайкин, О.А. Александрова

Алтайский государственный университет (Барнаул, Россия)

ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ МАССОВОГО РАЗМНОЖЕНИЯ *POTENTILLA ALB*А L. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Разработана методика введения *Potentilla alba* L. в культуру *in vitro*. Установлены морфогенетические особенности развития различных типов эксплантов лапчатки белой и регенерационная способность тканевой культуры. На этапе микроразмножения подобраны оптимальные питательные среды и условия культивирования растений-регенерантов. На этапе укоренения пробирочных растений и перевода их в условия *ex vitro* предложены эффективные способы адаптации к нестерильным условиям в условиях гидропоники.

Ключевые слова: эксплант, растение-регенерант, питательные среды, микроразмножение, укоренение, адаптация.

L.I. Tikhomirov, A.I. Shmakov, A.A. Kechaikin, O.A. Alexandrova

Altai State University (Barnaul, Russia)

EFFECTIVE METHOD OF MASS PROPAGATION OF *POTENTILLA ALBA* L. *IN VITRO* CULTURE

The developed methods the introduction of *Potentilla alba* L. *in vitro* culture. Installed morphogenetic features of the development of different types of explants white Potentilla and regenerative capacity of tissue culture. On the micropropagation stage optimal nutrient medium and culturing conditions of regenerated plants. At the stage of in vitro rooting of plants and their transfer in conditions *ex vitro* suggested effective ways of adaptation to non-sterile conditions in hydroponic conditions.

Key words: explants, plant regenerant, nutrient medium, micropropagation, rooting, adaptation.

Potentilla alba L. в официальной медицине используют при заболевании щитовидной железы [Захария, 1997; Архипова, 2012], профилактике и терапии заболеваний печени, сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта, а также как антисептическое и ранозаживляющее средство [Шимко, Хишова, 2010].

Potentilla alba (*Rosaceae*) произрастает в Европе. Ареал простирается от Центральной Европы до Волги. Северная граница соответствует северу Германии. Этот вид отсутствует в лесах Скандинавии, Финляндии и на Британских островах. Западная граница проходит через Вогезы и Арденны. На юге — через северную часть Италии, Югославии, Болгарии, охватывает европейскую часть России, Украину и Беларусь [Камелин, 2001]. Растет на разных почвах — от сухих до влажных, бедных питательными веществами, песчаных и глинистых. Предпочитает светлые, в особенности дубовые и сосновые леса, перелески, опушки и луга, травянистые склоны и кустарники. Это — многолетнее травянистое лекарственное растение 8–25 см высотой, с толстым маловетвистым длинным черно-бурым корневищем. Цветет в мае-июне, наблюдается вторичное цветение в июле-августе. Плодоносит также два раза — в июне-июле и в августе-сентябре. Растение становится пригодным для заготовления сырья на третий-четвертый год вегетации [Косман и др., 2013], в это время концентрация действующего вещества альбинина достигает максимального уровня.

В результате массовых заготовок лекарственного сырья *P. alba* внесена в Список редких и находящихся под угрозой исчезновения видов диких животных и дикорастущих растений, включаемых в Красную книгу Республики Беларусь 2004 г. [Китаева, 2012].

Поскольку растение в дикорастущей флоре Западной Сибири не представлено, а потребность в нем велика, мы поставили перед собой цель разработать способ массового размножения *Potentilla alba* в культуре *in vitro* и получения качественного посадочного материала.

Материалы и методы исследований. Экспериментальные работы с использованием метода культуры тканей проводили по общепринятым методикам [Калинин и др., 1980; Бутенко, 1999; Вечернина, 2004]. Растительные ткани культивировали на питательных средах MS [Murashige and Skoog, 1962]. Питательные среды дополняли фитогормонами цитокининового типа действия — 6-бензиламинопурином (6-БАП), кинетином и ауксинового типа действия — индолилмасляной кислотой (ИМК), α-нафтилуксусной кислотой (НУК). Также использовали гиббереллловую кислоту (ГК).

На этапе собственно микроразмножения использовали следующие среды: №1 — MS+1,0 мкМ кинетина, №2 — MS+1,0 мкМ 6-БАП, №3 — MS+2,5 мкМ 6-БАП, №4 — MS+1,0 6-БАП+0,5 ИМК+0,05 ГК, №5 — MS+0,5 6-БАП+0,25 ИМК+0,05 ГК. В качестве контроля использовали безгормональную среду на основе MS.

При введении в культуру *in vitro* фрагментов цветка для успешной регенерации важным моментом является стадия развития цветков. Необходимо брать нераскрывшиеся цветки среднего размера. Стерилизацию материала проводили в условиях ламинар-бокса. В качестве стерилизующего средства использовали раствор сулемы 0,1%, время стерилизации 7 минут. Подобный способ обеспечивал на 85% стерильность материала. Питательную среду готовили на основе MS, дополняли (БАП) 20,0 мкМ и ИМК 1,0 мкМ.

Растения выращивали в лабораторных условиях при искусственном освещении (2000–4000 лк) в условиях фотопериода: 16/8 часов свет/темнота и температуре 24–26^{0}С [Высоцкий, 1998].

Статистическая обработка данных выполнена в Excel 2007 с использованием стандартных показателей.

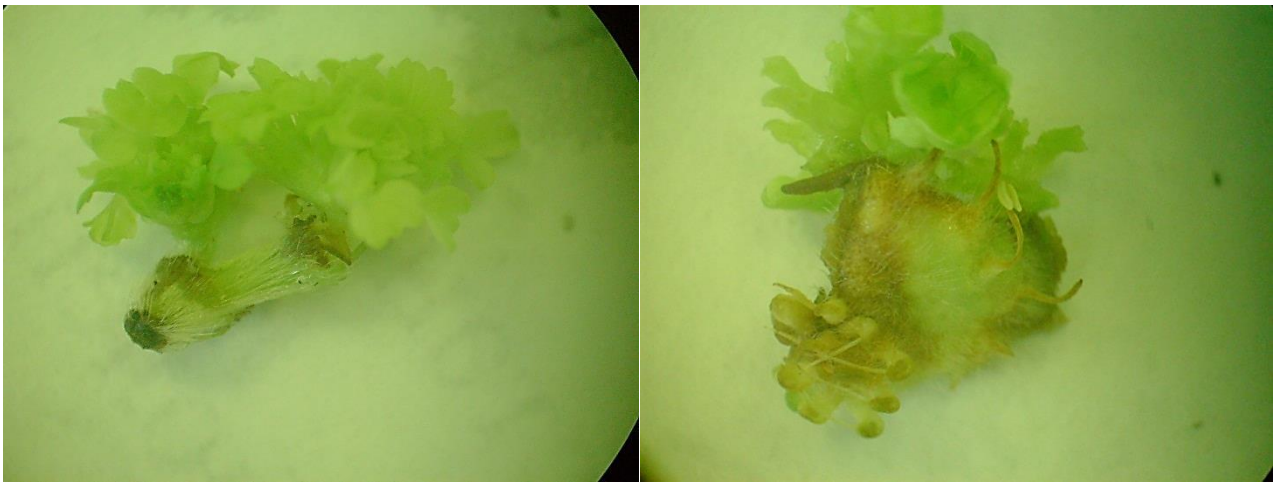
Результаты и обсуждения. *Введение в культуру in vitro Potentilla alba.* Жизнеспособность эксплантов была высокая при всех испытанных способах стерилизации. Инфицированность эксплантов в течение первых 7–10 дней была невысокая, что говорит о качественной поверхностной стерилизации, но в последующем времени достигала больших величин, вероятно, за счет внутренней инфекции. При культивировании апикальных меристем лапчатки белой на питательной среде с высоким содержанием 6-БАП под действием этого гормона происходит подавление апикального доминирования верхушечной меристемы и активация пазушных меристем. В результате примерно через две недели после помещения изолированной верхушки, состоящей из меристематического купола и одного-двух листовых примордиев, на питательную среду основания развертывающихся листьев начинали зеленеть, увеличивались в объеме, и из пазух появлялись пучки листьев. В пазухе новых листьев закладывались почки, прорастающие через некоторое время. Через один-два месяца экспланты превращались в конгломерат разновозрастных и разновеликих почек с развернутыми листьями.

Развитие почек у первичного экспланта зависело от состава питательной среды. При использовании 2,5 мкМ 6-БАП закладывалась масса почек, но побеги образовывались мелкие, что затрудняло дальнейшую работу по разделению и пересадке их на среды. Введение дополнительно ауксинов дало возможность побегам вытянуться, а гиббереллловая кислота усиливала данный эффект (рис. 1).Через 20–30 суток развившиеся побеги пересаживали на среды размножения.

Рис. 1. Экспланты *Potentilla alba* на среде №4

Использование почек в качестве эксплантов осложнялось их высокой инфицированностью и низким выходом стерильного материала. Лапчатку белую можно вводить в культуру ткани с помощью фрагментов цветка.

В качестве эксплантов использовали цветоножку и цветоложе. Через 19–25 суток регенерировали полноценные вегетативные побеги (рис. 2).



а б

Рис. 2. Экспланты *Potentilla alba* (а — цветоножка, б — цветоложе) на среде MS, дополненной 20,0 мкМ 6-БАП и 1,0 мкМ ИМК

Образовавшиеся почки легко отделяются одна от другой. После пересадки на свежую питательную среду каждая из них формировала побеги и новые пазушные почки, увеличивая тем самым число точек роста.

Собственно микроразмножение Potentilla alba. Для увеличения коэффициента размножения образовавшиеся побеги высаживали на среды размножения. Введение в питательную среду 1,0–2,5 мкМ 6-БАП индуцировало максимальную регенерацию и развитие пазушных и адвентивных почек у лапчатки белой. У одного побега за один пассаж можно было получить в ряде случаев до 20 почек. Но при длительном пассировании побегов на данных средах новообразующиеся побеги имели морфологические изменения, плохо укоренялись, гибли, что, вероятно, связано с накоплением фитогормона в тканях выше необходимого уровня. Для устранения подобного явления необходимо чередовать среды с различной концентрацией фитогормонов. При использовании кинетина на среде №1 формировалось наименьшее количество адвентивных и пазушных побегов.

Оптимальным содержанием фитогормонов для микроразмножения *Potentilla alba* в культуре *in vitro*, по нашим данным, является 1,0 мкМ БАП + 0,5 мкМ ИМК + 0,05 мкМ ГК (среда №4). Образовавшиеся конгломераты микропобегов легко делили на одиночные и пересаживали на среды, содержащие 0,5 мкМ БАП + 0,25 мкМ ИМК + 0,05 мкМ ГК (№5). Число побегов на один эксплант за один пассаж составляло от 3 до 9 штук. Таким образом, чередовали среды каждый пассаж. При этом после среды №5 крупные экземпляры микропобегов высаживали на среды укоренения, а мелкие — на среду №4 для дальнейшего размножения.

Укоренение, адаптация и доращивание в нестерильных условиях растений-регенерантов Potentilla alba. Сформированные побеги высотой не менее 20 мм переносили на среду укоренения. Питательная среда содержала 50% концентрации минеральных солей по прописи MS с добавлением 3 мкМ НУК, 30 г/л сахарозы, 7–9 г/л агара, при pH 5,6–5,8. На 20–24-е сутки укоренения побеги лапчатки белой имели корни и достигали стандартных размеров (рис. 3).

Мы разработали систему ступенчатой адаптации растений-регенерантов *Potentilla alba* к условиям *ex vitro*. Для стимуляции ризогенеза и более легкому переходу к почвенным условиям адаптацию к нестерильным условиям проводили на гидропонной установке, используя ¼ минерального состава среды MS (рис. 4).

Рис. 3. Этап укоренения *Potentilla alba*

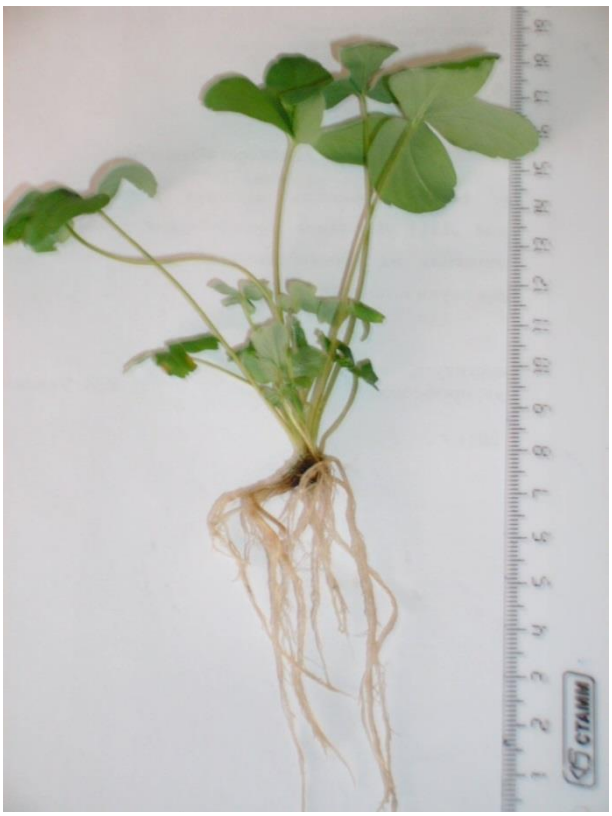


Рис. 4. Растение-регенерант *Potentilla alba* после адаптации на гидропонной установке

Через 25–30 суток адаптации растения высаживали в стаканчики с грунтом. Доращивание длилось в течение 30 суток в условиях зимних теплиц. 90% саженцев от общего числа растений-регенерантов успешно проходят адаптацию и доращивание. По окончании доращивания получали стандартные саженцы *Potentilla alba* с закрытой корневой системой, готовые к высадке в открытый грунт (рис. 5).

Рис. 5. Саженцы *Potentilla alba* с закрытой корневой системой

На основании теоретического расчета по формуле $Bn = B1 \times G^{(n-1)}$ (где n — количество месяцев культивирования, B1 — количество микропобегов, G — коэффициент размножения) от одного растения при данном способе культивирования можно получить за 12 месяцев 177147 саженцев лапчатки белой, если коэффициент размножения равен 3,0. Предложенный способ получения посадочного материала лапчатки белой является промышленно применимым и позволяет получать высококачественные саженцы при одновременном упрощении прохождения технологических этапов [Патент РФ №2525676, 2014]. Применение культуры ткани способствует сокращению материально-трудовых затрат и производственных площадей.

Заключение. Разработан способ массового размножения *Potentilla alba* в культуре *in vitro*. После адаптации к нестерильным условиям и доращивания получали стандартные саженцы лапчатки белой с закрытой корневой системой. Высокая эффектив-

ность процесса, тиражируемость, 90% адаптация к нестерильным условиям определяют промышленную применимость предлагаемого способа. Метод культуры ткани позволяет получить более 150 тысяч саженцев в год от одного экспланта.

Библиографический список

Архипова Э.В. Влияние экстракта Potentilla alba L. и комплексного средства «Тиреотон» на течение экспериментального гипотиреоза : автореф. дис. … канд. мед. наук. Улан-Удэ, 2012. 21 с.

Бутенко Р.Г. Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология на их основе. М., 1999. 160 с.

Вечернина Н.А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений. Барнаул, 2004. 205 с.

Высоцкий В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений : автореф. дис. … д-ра с.-х. наук. М., 1998. 44 с.

Захария А.В. Исследование лапчатки белой как перспективного средства для лечения заболеваний щитовидной железы : автореф. дис. … канд. биол. наук. Львов, 1997. 24 с.

Мелик-Гусейнов В.В. Атлас растений: растения в народной медицине России и сопредельных государств. Пятигорск, 2011. 608 с.

Калинин Ф.А., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев, 1980. 488 с.

Камелин Р.В. Род Potentilla L. // Флора Восточной Европы. СПб., 2001. Т. 10. С. 394–452.

Китаева М.В. Введение в культуру in vitro редких лекарственных растений Potentilla L. // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры : материалы Междун. конф., посвященной 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси (19–22 июня 2012 г., Минск, Беларусь). Минск, 2012. С. 398–401.

Косман В.М., Фаустова Н.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г. Накопление биологически активных веществ в подземных частях Лапчатки белой (Potentilla alba L.) в зависимости от срока культивирования // Химия растительного сырья. 2013. №2. С. 139–146.

Патент РФ № 2525676, МПК A01H 4/00. Способ получения лапчатки белой (Potentilla alba L.).

Шимко О.М., Хишова О.М. Оценка травы лапчатки белой // Вестник фармации. 2010. №1 (47). С. 17–24.

Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassaya with Tobacco Tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15, №4. P. 473.

УДК 502.75:574.1:504.73:57.085

Е.А. Шейко

Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины (Киев, Украина)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ С ЦЕЛЬЮ СОХРАНЕНИЯ РЕДКИХ, ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ И СОЗДАНИЯ РЕЗЕРВНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ

Впервые установлена взаимосвязь интенсивности каллусогенеза из эксплантов вегетативных и генеративных органов орхидных (*Cephalanthera damasonium*, *Himantoglossum caprinum*, *Ophrys oestrifer*) и соотношения составляющих фитогормонального комплекса на определенных этапах онтогенеза, что необходимо учитывать при разработке методов микроклонального размножения этих видов.

Ключевые слова: *Orchidaceae,* фитогормоны, культура *in vitro,* эксплант, каллусогенез.

E.A. Sheyko
M.H. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine (Kiev, Ukraine)

BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES TO THE CONSERVATION OF RARE, ENDANGERED PLANTS AND CREATION OF A RESERVE OF GENETIC COLLECTIONS

It is the first time when there has been found the interrelation of tylosis genesis intensity of orchid (*Cephalanthera damasonium*, *Himantoglossum caprinum*, *Ophrys oestrifer*) vegetative and generative organs explants and the content and ratio of the phytohormonal complex components at the specified stages of ontogenesis that must be taken into account in the elaboration of methods of this species microclonal reproduction.

Key words: *Orchidaceae,* phytohormones, culture *in vitro*, explants, callusogenesis.

Традиционно приоритетными объектами биотехнологических исследований является изучение различных видов, сортов и гибридов культурных растений. В настоящее время в мире появилась тенденция применения для охраны растительных ресурсов биотехнологических методов, которые базируются на культивировании клеток, тканей и органов растений в контролируемых условиях *in vitro,* при этом все чаще для подобных исследований используют виды дикорастущей флоры. Эти методы становятся составляющей частью общей стратегии сохранения генофонда растений, среди которых развиваются такие направления биотехнологии, как клонирование и размножение редких, исчезающих дикорастущих видов, создание генетических банков на основе пересадочных культур и криобанков. Однако эти методы пока еще не нашли широкого применения в работе по сохранению биоразнообразия растительных ресурсов умеренной зоны. Главная причина такого положения заключается в недостаточной изученности биологических особенностей таких видов растений, их жизненных репродуктивных стратегий, а также ряда теоретических и методических аспектов, которые связаны с моделированием и регуляцией морфогенетических процессов в культуре тканей и органов *in vitro.* При этом главной проблемой является подбор оптимальных условий для реализации морфогенетического потенциала эксплантов в условиях *in vitro*, экспериментальное моделирование процесса регенерации и получения жизнеспособных растений. Важную роль в индукции деления клеток экспланта, образовании каллуса и морфогенезе играют фитогормоны. Они позволяют регулировать развитие эксплантов *in vitro* путем изменения их концентрации и соотношения. Для большинства растений поиск гормональных компонентов среды имеет случайный характер, когда необходимо проверить широкий диапазон концентраций и комбинаций фитогормонов в питательной среде для стимуляции и активации пролиферации, роста и развития эксплантов в культуре. Поэтому изучение комплекса эндогенных фитогормонов растений позволяет ускорить процесс оптимизации культивирования эксплантов *in vitro*.

Материалом для проведения исследований были следующие виды орхидных: *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce), *Himantoglossum caprinum* (M. Bieb.) K. Koch, *Ophrys oestrifera* M. Bieb [Дідух, 2009, с. 158, 188, 201]. Экспедиционными исследованиями были охвачены центральный район главной горной гряды и западный район Южного берега Крыма. В лабораторном эксперименте с культурой тканей экспланты культивировали на стерильных питательных средах: Мурасиге — Скуга (завязи), Нича и Нич (семязачатки и пыльники), Кнудсона С (стебель) [Чревченко, 2008, с. 48–52]. В качестве эксплантов использовали вегетативные и генеративные органы орхидей, которые были отобраны в период вегетации (стебли), в начале цветения (пыльники) и на 25-й день после опыления (завязи, семязачатки). Предварительно проводили поверхностную стерилизацию эксплантов стерилентами, подо-

бранными для каждого типа экспланта, после чего их промывали стерильной дистиллированной водой. Для пыльников использовали двойную стерилизацию 0,8% $Ag(NO_3)_2$ и 70% C_2H_5OH в течение 2 и 1 мин соответственно, для завязей — стерилизацию 80% C_2H_5OH (1,5 мин) вместе с 15% H_2O_2 (2 мин), для стерилизации семязачатков — двойную стерилизацию 70% C_2H_5OH (2 мин) вместе с 15% H_2O_2 (3 мин), для получения стерильной культуры из сегментов стебля — 0,1% $HgCl_2$ с экспозицией 10 мин. Культивирование проводили в фотолюминостате ФСЛ-В (Россия) при 20–25 °С, 16-часовом фотопериоде с освещением 1000–3000 лк и 70% относительной влажности воздуха и в термостате ВТ-120 (Польша) при температуре 25 °С и отсутствии освещения. Для индукции роста и поддержания культур тканей использовали индолилмасляную кислоту (ИМК), 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) и 6-бензиламинопурин (6-БАП) в концентрациях от 0,5 мг/л до 3,0 мг/л.

В фиксированных образцах определяли количество индолилуксусной кислоты (ИУК), абсцизовой кислоты (АБК) и цитокининов (ЦТК). Фракцию гормонов выделяли 80% этанолом, спирт упаривали. Водный остаток промораживали, центрифугировали при 10000 g, супернатант экстрагировали диэтиловым эфиром при pH 2,5 (ИУК и АБК) и бутанолом при pH 8 (ЦТК). Уровни связанных ИУК и АБК оценивали после химического гидролиза. Фракции ИУК и АБК очищали с помощью кислотно-щелочной переэкстракции и ТСХ на пластинах Silufol UV-254 (Kavalier, Чехия) в системе растворителей хлороформ : этилацетат : уксусная кислота (70 : 30 : 5). Очистку ЦТК проводили с помощью ионообменной хроматографии на колонке Дауэкс 50Wx8 (H^+-форма, элюция аммиаком) и ТСХ в системе изопропанол : аммиак : вода (10 : 1 : 1). В качестве стандартов использовали препараты фитогормонов фирмы Sigma (США). Окончательный анализ качественного и количественного содержания фитогормонов проводился методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 LC с диодно-матричным детектором G 1315 B (США), колонка Eclipce XDB-C 18 2,1×150 мм, размер частиц 5 мм. Элюция проводилась в системе растворителей метанол : вода (37 : 63). Анализ и обработку хроматограмм осуществляли с помощью программного обеспечения Chem Station, версия B.03.01 в режиме *on-line.*

Все полученные результаты обрабатывали статистически с помощью компьютерной статистической программы Excel лицензионного пакета Microsoft Office 2007. В таблицах и на рисунках приведены средние арифметические и их статистические ошибки. Достоверность разницы оценивали по критерию Стьюдента, используя 5% уровень значимости ($p \le 0,05$).

Главную роль в индукции деления клеток экспланта, образовании каллуса и морфогенезе играют фитогормоны [Benkova, 2006, p. 117; Van Staden, 1999, p. 40; Werner, 2001, p. 10487–10492]. Перед подбором оптимальных концентраций и соотношений фитогормонов в питательной среде для культивирования эксплантов предварительно провели исследования содержания фитогормонов в интактных органах. Исследования по подбору оптимальных концентраций и соотношений фитогормонов в питательной среде показали на примере эксплантов из завязей, что максимальная частота каллусогенеза наблюдается на питательных средах, в которых сохраняется такое же соотношение цитокининов и ауксинов, как и для интактного органа (табл.).

У *O. oestrifera* максимальная частота каллусогенеза наблюдается при культивировании на питательной среде с добавлением экзогенных цитокининов и ауксинов в соотношении 1,7, что характерно для интактных органов. Для эксплантов завязей *H caprinum* такое соотношение фитогормонов составило 1,5, а для *C. damasonium* — 1,5. При культивировании на питательных средах с другими количественными соотношениями фитогормонов частота каллусогенеза была значительно меньше и не превышала для всех типов эксплантов 10%.

Зависимость каллусогенеза эксплантов завязей орхидных от соотношения эндогенных и экзогенных цитокининов и ауксинов

Цитокинины/ауксины		Частота каллусогенеза, %
эндогенные	экзогенные	
Ophrys oestrifera		
1,7	1,7	29,9 ± 1,5
1,7	1,3	1,3 ± 0,1
1,7	0,7	5,4 ± 0,3
1,7	0,5	3,0 ± 0,2
Himantoglossum caprinum		
1,5	1,5	34,6 ± 1,7
1,5	1,3	3,0 ± 0,1
1,5	0,7	3,8 ± 0,2
1,5	0,5	1,9 ± 0,1
Cephalanthera damasonium		
1,5	1,5	23,9 ± 1,1
1,5	1,3	4,0 ± 0,1
1,5	0,7	3,6 ± 0,3
1,5	0,5	0,9 ± 0,01

Результаты работы расширяют представление о роли фитогормонального комплекса вегетативных и генеративных органов растений в процессах роста и развития и могут служить основой для разработки эффективных методов размножения редких орхидных в культуре *in vitro* при помощи экзогенных регуляторов роста. Кроме того, полученные данные указывают на перспективность применения методов микроклонального размножения редких и исчезающих видов растений, в частности орхидей, и могут быть использованы для сохранения генофонда орхидных.

Выводы

1. Впервые установлена взаимосвязь интенсивности каллусогенеза из эксплантов вегетативных и генеративных органов орхидных и соотношения составляющих фитогормонального комплекса на определенных этапах онтогенеза, что необходимо учитывать при разработке методов микроклонального размножения этих видов.

2. Показано, что максимальная частота каллусогенеза в определенных условиях культивирования характерна для генеративных органов орхидей, которые отличаются повышенным содержанием цитокининов, индолилуксусной кислоты и низким уровнем абсцизовой кислоты.

3. Установлено, что максимальная частота каллусогенеза для эксплантов из генеративных и вегетативных органов орхидных наблюдается на питательных средах с подобным соотношением экзогенных и эндогенных фитогормонов.

Библиографический список

Дідух Я.П. Червона книга України. Рослинний світ. Київ, 2009. 900 с.

Черевченко Т.М., Лаврентьева А.Н., Иванников Р.В. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro*. Київ, 2008. 560 с.

Benkova E., Chist A., Triml J., Jugens G. Role of hormonal regulation of auxin and cytokinin in lateral root development // XV Congress Federation of European Societies of Plant Biology. Lyon, France. 2006. P. 117.

Staden J. van. Occurrence and potential physiological effects of algae plant growth regulators // Intern. Workshop and Training Course on Microalgal Biology and Biotechnology. Hungary, 1999. P. 40.

Werner T., Motyka V., Strnad M., Schmülling T. Regulation of plant growth by cytokinin // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. V. 98. P. 10487–10492.

УДК 579.66

В.В. Шеремет, Н.Н. Волченко, А.А. Самков
Кубанский государственный университет (Краснодар, Россия)

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И РАСТИТЕЛЬНОГО КОМПОНЕНТА НА ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ В РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНОМ ТОПЛИВНОМ ЭЛЕМЕНТЕ

В модифицированных микробных топливных элементах оценена степень влияния растений на генерацию низковольтного электричества. Выявлена прямая зависимость электрогенной активности элементов от состава питательной среды.

Ключевые слова: растительно-микробный топливный элемент, биоремедиация, болотные угодья.

V.V. Sheremet, N.N. Volchenko, A.A. Samkov
Kuban State University (Krasnodar, Russia)

INFLUENCE OF SUBSTRATE AND PLANT COMPONENTS ON ELECTROGENESIS PLANT MICROBIAL FUEL CELL

The modified microbial fuel cells, to assess the impact of plants on the generation of low-voltage electricity. The direct dependence of electric power elements of the composition of the substratum.

Key words: plant microbial fuel cell, bioremediation, wetland-system.

В технологии микробных топливных элементов [Самков, 2014] одним из перспективных поднаправлений являются растительно-микробные топливные элементы (Plant microbial fuel cell — pMFC). Они относятся к гибридной технологии, которая использует продуктивный потенциал растительно-микробных взаимодействий в электрохимических ячейках различного дизайна [Wetser, 2015]. На кафедре генетики, микробиологии и биотехнологии Кубанского государственного университета уже получен патент на микробный топливный элемент и схему его сборки [Патент РФ №145009, 2013].

Известно, что в природных условиях микроорганизмы активно взаимодействуют с корневой системой растений, образуя специфические зоны прикорневой микрофлоры — ризоплану и ризосферу [Imran, 2014]. Это явление активно используется в методах фиторемедиации, в частности ризодеградации. При этом происходит активное разложение органических веществ-поллютантов за счет активизации микробиологических окислительных процессов в ризосферной зоне [Meggo, 2013].

Одной из активно исследуемых за рубежом биодеградационных систем являются так называемые wetland-системы, или искусственные болота. Принцип их действия заключается в создании емкостей или искусственных водоемов гидропонных конструкций с плавающими там высшими растениями. Емкости также могут быть заполнены твердым, хорошо дренажируемым наполнителем, в котором развивается корневая система растений. При пропускании через wetland-систему сточных вод, иных загрязненных жидкостей органические вещества ассимилируются микрофлорой, минеральные (ионы нитратов, нитритов, аммония, фосфат-ионы и др.) поглощаются корневой системой как элементы минерального питания растений [White, 2013].

Растительно-микробные топливные элементы к настоящему времени не имеют устоявшегося аппаратного дизайна и представлены разнообразными конструкци-

онными решениями в зависимости от предназначения. Так, имеются устройства вертикального типа, где в цилиндрический сосуд, заполненный дренажным материалом помещено единичное растение, и система электродов на разной глубине залегания от поверхности [Helder, 2010]. В другой версии в горизонтальном сосуде его верхняя аэробная зона содержит растения в гидропонном наполнителе и катод. В нижней анаэробной зоне расположен анод. Подобное устройство является растительно-микробным топливным элементом с функцией wetland-системы.

Опыт проводился в трех рМТЭ описанной выше конструкции, различающихся лишь составом растительного компонента: вариант 1 — газонная трава, вариант 2 — люцерна, вариант 3 — отсутствие растений (контроль).

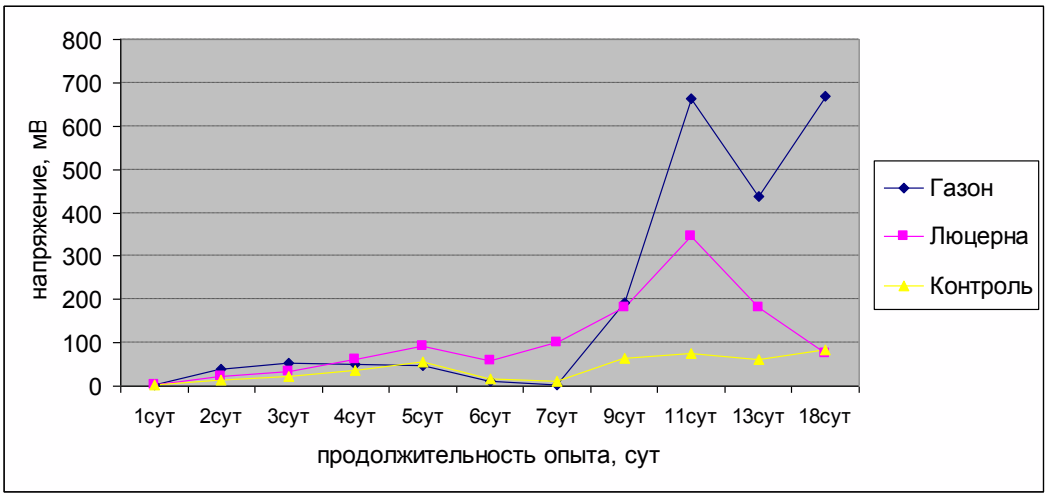
Первые 5 суток эксперимента электрическое напряжение, создаваемое ячейками на холостом ходу, было минимально — в пределах 20 мВ. После включения нагрузки в 1500 Ом генерируемая мощность начинала расти, с этого момента фиксировались ежесуточные данные. Для сравнительной оценки вариантов вычисляли удельную мощность системы:

а) площадную (мВт/м^2) — относительно площади биоанода;

б) объемную (мВт/м^3) — относительно суммарного объема рМТЭ.

В течение двухнедельного опыта первые 7 суток ячейки работали на минеральной среде, оставшиеся 7 суток — на сточной воде с сахарного завода.

Как видно из рисунка, в первые 7 суток опыта электрическое напряжение в ячейках медленно росло в пределах 100 мВ.



После замены на 7-е сутки питательного раствора на сточные воды сахарного завода начался рост электрогенной активности. В ячейках с растениями вольтаж к максимуму на 11-е сутки вырос в 190 и 3,5 раза соответственно для газонной травы и люцерны. В контроле электрогенез возрос незначительно — в 6 раз к 11-м суткам и оставался в этих пределах в последующие 7 суток эксперимента.

Таким образом, фактор наличия растений в составе МТЭ играет ключевую роль в его электрогенной активности.

Пробы жидкостей отбирались одновременно из обоих отсеков. Так, на 6-е сутки опыта во всех ячейках pH составлял 8,7. Данные, отмеченные на 17-е сутки эксперимента, представлены в таблице.

Камера	Кислотность жидкой фазы, pH		
	газонная трава	люцерна	контроль без растений
Аэробная (верхняя)	7,4	7,5	7,9
Анаэробная (нижняя)	7,2	7,0	7,9

Как видно из таблицы, pH среды в анодной камере был несколько ниже, чем в катодной. Это объясняется иными путями микробного разложения органических веществ в анаэробных условиях, ведущими к преимущественному накоплению органических кислот. Протоны, накапливаясь в нижней анодной зоне, диффундируют по градиенту концентрации и в процессе дренажа жидкости МТЭ в верхнюю катодную зону. Там они окисляются, вступают в реакции с участием растворенного кислорода. В контрольной ячейке, не функционирующей без растений, кислотность среды не различалась в аэробном и анаэробном отсеках. Этот факт свидетельствует о ключевой роли растений в растительно-микробном топливном элементе.

Библиографический список

Патент РФ №145009 / Н.Н. Волченко, А.А. Самков, А.А. Худокормов. 2013.

Самков А.А., Волченко Н.Н., Худокормов А.А., Калашников А.А., Веселовская М.В. Анаэробная биодеградация органических соединений в микробных топливных элементах // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2014. №101. С. 1–15.

Helder M. Concurrent bio-electricity and biomass production in three Plant-Microbial Fuel Cells using Spartina anglica, Arundinella anomala and Arundo donax // Bioresource technology. 2010. Т. 101, №10. P. 3541–3547.

Imran M. Perspectives of rhizosphere microflora for improving Zn bioavailability and acquisition by higher plants // Int. J. of Agri. and Biol. 2014. Т. 16, №3. P. 653–662.

Meggo R.E., Schnoor J.L. Cleaning polychlorinated biphenyl (PCB) contaminated garden soil by phytoremediation // Environmental sciences. 2013. Т. 1, №1. P. 33.

Wetser K. Electricity generation by a plant microbial fuel cell with an integrated oxygen reducing biocathode //Applied Energy. 2015. Т. 137. P. 151–157.

White S.A., Cousins M.M. Floating treatment wetland aided remediation of nitrogen and phosphorus from simulated stormwater runoff // Ecological Engineering. 2013. Т. 61. P. 207–215.

УДК 606:63

А. Энхтайван[1], Е.А. Кузьмина[1], Е.А. Калашникова[1], А.А. Балакина[2]

[1]Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева (Москва, Россия)

[2]Институт проблем химической физики РАН (Черноголовка, Россия)

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА РАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ РОДА *ASTRAGALUS* L. И НАКОПЛЕНИЕ ВТОРИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Представлены результаты по влиянию условий культивирования на размножение астрагала монгольского (*Astragalus mongholicus* Bge.) и астрагала приподнимающегося (*Astragalus adsurgens* Pall.) *in vitro* и накопление вторичных соединений в тканях микропобегов. В результате проведенных исследований установлены особенности их размножения в условиях *in vitro* и изучено влияние различных цитокининов на коэффициент размножения. Показано, что присутствие в составе питательной среды препарата Дропп стимулировало процесс образования почек *de novo*, формирование микропобегов и увеличивало коэффициент размножения. Кроме того, в этих условиях отмечено наибольшее накопление вторичных соединений в тканях микропобегов, что увеличивало цитотоксичность растительных экстрактов по отношению к клеткам линии HeLa.

Ключевые слова: микроразмножение, астрагал, *in vitro*, морфогенез, вторичные метаболиты.

A. Enkhtaivan[1], E.A. Kuzmina, E.A. Kalashnikova[1], A.A. Balakina[2]
[1]Russian State Agrarian University — Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev (Moscow Russia)
[2]Institute of Problems of Chemical Physics RAS (Chernogolovka, Russia)

INFLUENCE CULTIVATION CONDITIONS ON PLANT PROPAGATION KIND *ASTRAGALUS* L. AND ACCUMULATION OF SECONDARY COMPOUNDS IN CULTURE *IN VITRO*

The results on the effect of culture conditions on the cultivation of the Mongolian Milkvetch (*Astragalus mongholicus* Bunge.) and Erect Milkvetch (*Astragalus adsurgens* Pall.) *in vitro* and accumulation of secondary compounds in the tissues microshoots. The studies established features of their breeding *in vitro* and studied the influence of various cytokinin on the multiplication factor. It is shown that the presence in the culture medium formulation Drop stimulated the formation of kidney *de novo*, and increased formation microshoots multiplication factor. Furthermore, in these conditions, the most marked accumulation of secondary compounds microshoots tissues, increasing the cytotoxicity of plant extracts with respect to the cell line HeLa.

Key words: micropropagation, astragalus, *in vitro*, morphogenesis, secondary metabolites.

В настоящей время в медицине и фармакологии существует интерес к использованию лекарственных препаратов, полученных из растительного сырья. Однако увеличение сбора лекарственных растений из дикой природы приводит к истощению их запасов и практически полному уничтожению. В этой связи особенно актуальным является поиск альтернативных источников лекарственного сырья. Перспективным подходом к получению сырья является выращивание *in vitro* клеточных культур лекарственных растений. К таким растениям относятся различные виды рода *Astragalus* L., например, астрагал монгольский и астрагал приподнимающийся. Астрагалы являются многолетними лекарственными растениями относящимся к семейству Бобовые. Спиртовые экстракты их корней проявляют высокую противоопухолевую активность.

Исходя из вышеизложенного цель работы — изучить влияние условий культивирования на микроразмножение астрагала монгольского (*Astragalus mongholicus* Bge.) и астрагала приподнимающегося (*Astragalus adsurgens* Pall.) и накопление вторичных соединений в условиях *in vitro.*

Объектом исследования служили семена астрагала монгольского (*Astragalus mongholicus* Bge.) и астрагала приподнимающегося (*Astragalus adsurgens* Pall.), собранные в Монголии, а также сегменты гипокотиля, семядольные листья, апикальные почки, изолированные со стерильных 20-суточных проростков. Для индукции образования адвентивных почек и побегов в состав питательной среды добавляли в качестве цитокининов БАП, 2ip, кинетин в концентрациях 1–2 мг/л, а также препарат Дропп. В качестве ауксинов — НУК или ИУК в концентрации 1 мг/л. В качестве контроля была выбрана безгормональная среда.

Оценку действия растительных экстрактов на раковые клетки M-HeLa (эпителиоидная карцинома шейки матки человека, сублиния HeLa, клон M HeLa, коллекция Института цитологии РАН, Санкт-Петербург) проводили в лаборатории молекулярной биологии Института проблем химической физики РАН. Растительный экстракт получали из микропобегов астрагала монгольского и приподнимающегося, полученных на питательных средах разного гормонального состава, культивируемых в условиях разного света. Культивирование опухолевых клеток проводили согласно общепринятой методике [Фрешни, 2011]. Измерение поглощения проводили при длине волны 570 нм на планшетном фотометре «Эфос». Затем рассчитывали интенсивность МТТ-окрашивания (%) относительно контроля.

Экспериментально установлено, что присутствие в составе питательной среды БАП в концентрациях 2 мг/л приводило к образованию адвентивных почек только в случае использования верхушечных меристем. В этом варианте в базальной части почек формировалось от 3 до 5 микропобегов у растений астрагала монгольского и 1–2 микропобега для астрагала приподнимающегося [Энхтайван, Калашникова, 2013, с. 40–48, Энхтайван, Калашникова, 2014, с. 26–30]. Микропобеги в дальнейшим развивались в растения. В остальных вариантах образование почек *de novo* не наблюдали, а было отмечено лишь формирование каллусной ткани. Исследования показали, что в процессе культивирования микрочеренков астрагала монгольского на питательных средах, содержащих различные гормоны, или на безгормональной среде формировались побеги, отличающиеся по скорости роста. Наилучшие результаты были получены на среде с Дропп. Установлено, что присутствие в составе питательной среды препарата Дропп в концентрации 0,1 мг/л стимулировало процесс индукции образования адвентивных почек, формирование микропобегов и увеличивало коэффициент размножения. Этот процесс не зависел от исследуемого вида и условий культивирования растительных эксплантов. Следует отметить, что для астрагала приподнимающегося коэффициент размножения в 3 раза был ниже по сравнению с астрагалом монгольским. Кроме того, для астрагала приподнимающегося было выявлено формирование корневой системы на среде с 2ip + НУК. Этот эффект нами не был отмечен ни в одном из других вариантов.

Как известно, большинство из изученных видов растений астрагала содержит в своем составе вещества вторичного синтеза, такие как флавоноиды, алкалоиды, сапонины, кумарины и др. [Имомназаров, 1995]. Однако среди всех веществ главное место занимают флавоноиды. Они в больших количествах содержатся в наземной части растений по сравнению с корнями [Дунгэрдорж, 1978].

Поскольку в литературе не существует данных по цитотоксичности экстрактов, полученных из надземной части астрагалов, и ранее такие эксперименты не проводились, то было необходимо на первом этапе экспериментально установить то количество растительного материала, при котором можно наблюдать гибель раковых клеток. При этом особое внимание нами было уделено на условия и сроки выращивания растительного материала *in vitro*. Как отмечалось выше, микропобеги астрагалов культивировали на средах, содержащих различные цитокинины (БАП, 2ip, Дропп, безгормональная среда). Образцы были взяты на пассажах I, IV и VII. Для получения рабочего раствора использовали 100 мкл экстракта и 900 мкл среды. Результаты эксперимента представлены на рисунке 1.

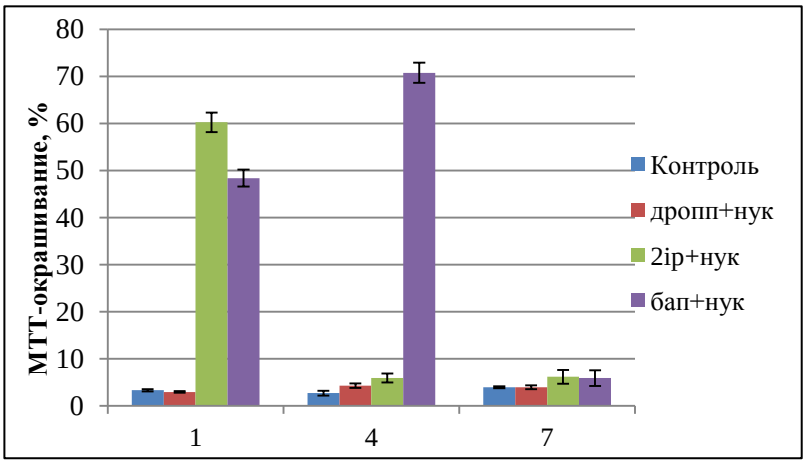


Рис. 1. Влияние регуляторов роста растений и продолжительности культивирования на цитотоксичность растительных экстрактов

Было показано, что наибольшей цитотоксичностью независимо от времени культивирования *in vitro* обладают экстракты, полученные из микропобегов, культивируемые на среде, содержащей в качестве регуляторов роста Дропп, а также на безгормональной среде. В этих вариантах цитотоксичность составила в среднем 3%, в то время как в вариантах с БАП и 2ip растительный экстракт был неэффективен. Этот показатель на ранних этапах культивирования составил 48,3 и 60,2% соответственно. Однако при длительном культивировании микропобегов на разных питательных средах (в течение семи пассажей) цитотоксичность полученных растительных экстрактов во всех вариантах существенно увеличилась. Показано, что менее 10% исследуемых раковых клеток выжило.

Таким образом, был сделан вывод, что все изученные экстракты, независимо от условий выращивания растительного материала (микропобегов), обладают цитотоксичностью для изученной линии опухолевых клеток.

В следующей серии эксперимента необходимо было выявить концентрацию, вызывающую гибель 50% клеток, т.е. IC50 для каждого варианта культуральной среды. Для этого определяли массу полученного после лиофилизации экстракта и растворяли его до концентрации 50 мг/мл. На клетки наносили экстракты в концентрации от 50 до 5000 мкг/мл. Результаты представлены на рисунке 2.

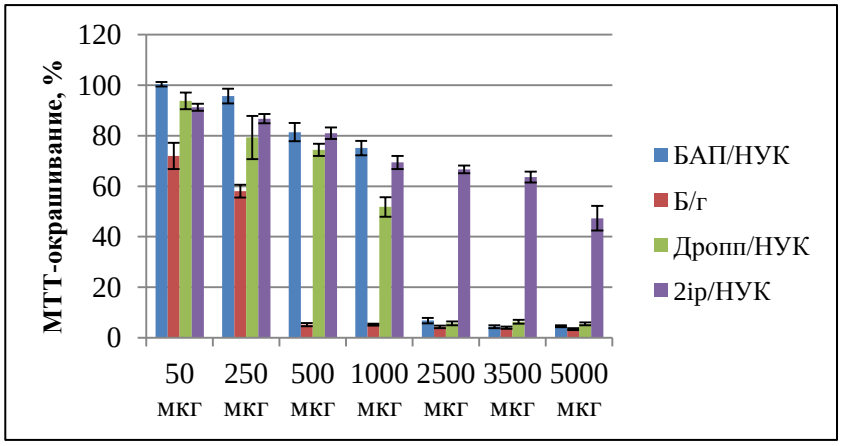


Рис. 2. Влияние различных концентраций экстрактов астрагала монгольского на жизнеспособность опухолевых клеток

В результате проведенных исследований было установлено, что наибольшей токсичность для изученной линии клеток обладает экстракт, полученный из растений, культивируемых на безгормональной среде и на среде, содержащей препарат Дропп. 50 и более процентов клеток гибнет при концентрации более 500 и 1000 мкг/мл соответственно. Наименьший цитотоксический эффект был отмечен в варианте с 2ip — 50% клеток гибнет только при высоких концентрациях — 5000 мкг/мл. Полученные данные можно объяснить тем, что именно на среде с 2ip формирование побегов происходило менее интенсивно, а морфогенетический потенциал выражен слабо. Это проявлялось по таким показателям, как медленная скорость роста побегов и низкий коэффициент размножения. Вероятно, в клетках таких побегов отмечается нарушение метаболических процессов.

В связи с тем, что при концентрации экстрактов 5000 мкг/мл наблюдали гибель опухолевых клеток во всех вариантах, то в дальнейших экспериментах данная концентрация была взята нами для изучения влияния светодиодных ламп разного света на цитотоксичность растительных экстрактов.

Таким образом, экспериментально установлено, что условия культивирования оказывают существенное влияние на накопление вторичных соединений в надземных частях растений астрагалов монгольского и приподнимающегося. Дальнейшая оптимизация условий культивирования может привести к получению высокоцитотоксичных экстрактов, которые найдут свое применение в медицине для борьбы с онкологическими болезнями.

Библиографический список

Дунгэрдорж Д. Изучение флавоноидных соединений некоторых видов рода астрагал (Astragalus L.), применяемых в народной медицине Монголии : автореф. дис. … канд. фарм. наук. М., 1978. 23 с.

Имомназаров Б.А. Химическая структура циклоартановых гликозиодов пяти видов Astragalus L. : автореф. дис. … канд. хим. наук. Хорог, 1995. 18 с.

Фрешни Р.Я. Культура животных клеток : практическое руководство. М., 2011. 120 с.

Энхтайван А., Калашникова Е.А. Размножение Астрагала монгольского (Astragalus mongholicus bge.) в условиях *in vitro* // Известия ТСХА. 2013. Вып. 6. С. 40–48.

Энхтайван А., Калашникова Е.А. Размножение Астрагала приподнимающегося (Astragalus adsurgense Pall.) в условиях in vitro // Кормопроизводство. 2014. №2. С. 26–30.

Научное издание

Биотехнология и общество в XXI веке

Сборник статей

Редактор: *Л.И. Базина*
Подготовка оригинал-макета: *Е.М. Федяева*
Оформление обложки: *О.В. Майер*

Издательство Алтайского государственного университета
ЛР 020261 от 14.01.1997.

Подписано в печать 28.08.2015. Формат 60х84/8.
Бумага офсетная. Усл. печ. л. 50,7.

Отпечатано в ООО «Ренд»
656064, Барнаул, ул. Бобуркина, 12/108.
Тираж 200 экз. Заказ 0101-2015.