

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Ставропольский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации*



# **БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ**

**МАТЕРИАЛЫ VII МЕЖДУНАРОДНОЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

Часть 1–я

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Ставропольский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

---

# **БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ**

МАТЕРИАЛЫ VII МЕЖДУНАРОДНОЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

Часть 1–я

Ставрополь, 2021

УДК 574.6 : 577.1 (061.3)  
ББК 35. 662 Я 431  
Б 63

**БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ:** Материалы VII междунар. науч.-  
практ. конф. – Ч.1. – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2021. Ч.1. – с. 202

ISBN

**Члены редакционной коллегии:**

**А. Б. Ходжаян** д. м. н., профессор;  
**В. И. Заерко** – д. вет. н.;  
**Н. А. Федько** – д. м. н., профессор;  
**К. С. Эльбекьян** – д. б. н., профессор;  
**М. В. Топчий** – к. б. н., доцент;  
**Т. М. Чурилова** – к. б. н., доцент.

**Ответственный редактор:**

– В.Н. Мажаров, к.мед.н., доцент, и.о. проректора по учебной деятельности

В сборнике представлены материалы VII международной научно-практической конференции по перспективным проблемам биотехнологии лекарственных средств, актуальным вопросам экологической, пищевой, медицинской биотехнологии, химии, биологии, экологии, медицинской диагностики.

**Рецензент:**

**Е. В. Щетинин** – д. м. н., проректор по научной и инновационной работе, профессор.

УДК 574.6 : 577.1 (061.3)  
ББК 35. 662 Я 431  
Б 63

*Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом СтГМУ.  
Материалы публикуются в авторской редакции*

© Ставропольский государственный  
медицинский университет, 2021

ISBN

*Адамцевич Н.Ю., Болтовский В.С., Туток В.В.*  
**ЭКСТРАКЦИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ЦВЕТКОВ  
БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО (*HELICHRYSUM ARENARIUM L.*)**

В настоящее время отмечается интерес ученых к лекарственным растениям, ценность которых связана с биологической активностью веществ, содержащихся в растительном сырье. Одним из наиболее многочисленных классов биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения являются флавоноиды. Различные лабораторные и клинические исследования выявили у данного класса веществ широкий спектр положительного терапевтического действия.

Перспективным источником флавоноидов являются цветки бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium L.*) – многолетнего травянистого растения семейства Астровые (*Asteraceae*). Бессмертника песчаного цветки (*Helichrysi arenari flores*) являются фармакопейным растительным сырьем в Республике Беларусь, Российской Федерации, Украине, Казахстане, Польше, Германии и др. странах [1].

В настоящее время не существует универсального способа экстракции цветков бессмертника песчаного. Например, в Государственной Фармакопее Республики Беларусь (ГФ РБ) выделение флавоноидов из цветков бессмертника песчаного заключается в 4-х кратной экстракции 96%-ным этиловым спиртом на кипящей водяной бане [2]. Согласно Государственной Фармакопее Российской Федерации экстрагирование флавоноидов из цветков бессмертника песчаного проводят 70%-ным этиловым спиртом на кипящей водяной бане в течение 1 ч [3].

Цель данной работы заключается в изучении влияния параметров процесса экстракции на выход флавоноидов из цветков бессмертника песчаного.

Объектом исследования являлись цветки бессмертника песчаного 2019 года сбора в фазе бутонизации, предоставленные Центральным ботаническим садом НАН Беларуси (влажность сырья составляла 9,19 %).

Изучение влияния различных параметров (концентрации этилового спирта, температуры, продолжительности и соотношения массы сырья к объему экстрагента) на выход флавоноидов из цветков бессмертника песчаного проводили при варьировании значений одного из параметров, при этом остальные оставались неизменными.

Общее содержание флавоноидов в экстрактах определяли по методике, приведенной в ГФ РБ. Оптическую плотность растворов измеряли на

спектрофотометре SPECORD 200 (Analytik Jena, Германия) при длине волны 411 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Для сравнительного анализа проведена 4-х кратная экстракция цветков бессмертника песчаного согласно методике, приведенной в ГФ РБ, но экстрагирование сырья проводили этиловым спиртом разной концентрации с варьированием температуры процесса (таблица). Установлено, что с ростом температуры увеличивается выход флавоноидов и достигает максимума при 70°C. Данная температура оптимальна при всех исследуемых концентрациях этилового спирта. Наибольшее количество целевых компонентов экстрагируется 96%-ным этиловым спиртом.

Таблица

Влияние концентрации этилового спирта и температуры на выход флавоноидов из цветков бессмертника песчаного

Температура, °С	Выход флавоноидов, % от массы абсолютно сухого сырья
50%-ный этиловый спирт	
40	4,65±0,09
50	5,13±0,07
60	5,54±0,09
70	5,93±0,13
82,8 (T <sub>кип</sub> )	5,84±0,18
70%-ный этиловый спирт	
40	4,48±0,06
50	4,98±0,08
60	5,50±0,11
70	5,89±0,09
80,8 (T <sub>кип</sub> )	5,76±0,14
96%-ный этиловый спирт	
40	4,72±0,09
50	5,12±0,11
60	5,68±0,13
70	6,27±0,23
78,8 (T <sub>кип</sub> )	5,98±0,13

В таблице представлены результаты определения общего содержания флавоноидов в каждой порции вытяжки при проведении четырех кратной экстракции цветков бессмертника песчаного, из которой следует, что выделение флавоноидов из данного растительного сырья оптимально проводить в режиме трех кратной экстракции.

Также важными факторами, влияющим на процесс экстракции БАВ из растительного сырья, являются продолжительность процесса и соотношение массы сырья к объему экстрагента.

Таблица

Влияние кратности процесса экстракции на выход флавоноидов из цветков бессмертника песчаного

Кратность	Выход флавоноидов, % от массы абсолютно сухого сырья
50%-ный этиловый спирт	
1	4,74±0,05
2	5,90±0,08
3	5,89±0,12
4	5,93±0,13
70%-ный этиловый спирт	
1	4,51±0,06
2	5,44±0,10
3	5,84±0,09
4	5,89±0,09
96%-ный этиловый спирт	
1	5,02±0,11
2	5,88±0,09
3	6,24±0,19
4	6,27±0,23

На примере экстракции 96%-ным этиловым спиртом цветков бессмертника песчаного при температуре 70°C проведен анализ влияния данных параметров на выход флавоноидов, который показал, что с ростом продолжительности процесса экстракции от 10 мин до 40 мин выход флавоноидов увеличивается. Далее наблюдается незначительное изменение. Однако при проведении двух кратной экстракции с продолжительностью экстрагирования каждой порции по 30 мин и 40 мин, выход флавоноидов сопоставим. Так как для цветков бессмертника песчаного оптимально проведение трех кратной экстракции, то каждую порцию достаточно экстрагировать в течение 30 мин.

В таблице показано, что первую стадию экстракции оптимально проводить при соотношении массы сырья к объему экстрагента как 1:50, последующие стадии – при 1 : 25.

Таблица

Влияние продолжительности процесса экстракции на выход флавоноидов из цветков бессмертника песчаного

Продолжительность, мин	Выход флавоноидов, % от массы абсолютно сухого сырья
Однократная экстракция	
10	1,85±0,08
20	3,27±0,11
30	5,04±0,10

40	5,39±0,14
50	5,42±0,21
60	5,37±0,16
Двух кратная экстракция	
30 (каждая порция)	5,88±0,19
40 (каждая порция)	5,94±0,21

Таблица

Влияние соотношения массы сырья к объему экстрагента на выход флавоноидов из цветков бессмертника песчаного

Соотношение массы сырья к объему экстрагента, г/мл	Выход флавоноидов, % от массы абсолютно сухого сырья
Однократная экстракция	
1 : 25	3,78±0,12
1 : 50	5,12±0,10
1 : 100	5,01±0,13
Двух кратная экстракция	
1 порция – 1 : 50 2 порция – 1: 50	5,90±0,14
1 порция – 1: 50 2 порция – 1: 25	5,93±0,11

Выделение флавоноидов из цветков бессмертника песчаного целесообразно проводить 96%-ным этиловым спиртом при 70°C в режиме трех кратной экстракции. При этом соотношение массы сырья к объему экстрагента должно составлять 1 : 50 для первой порции, для последующих – 1: 25, продолжительность экстрагирования каждой порции – 30 мин.

#### Список использованной литературы

1. Литвиненко В.И. К вопросу об изосалипурпозиде-стандарте в контроле сырья и фито препаратов из бессмертника песчаного / В.И. Литвиненко и др. // Фармаком, 2016. – №3. – С. 23–27.
2. Государственная Фармакопея Республики Беларусь II. Т.2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохранения Республики Беларусь, РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», 2016. – 1367 с.
3. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIX. Т.4. / М-во здравоохранения Российской Федерации, 2018. – 1833 с.

*Амбарцумян Е.Р., Гиносян С.В., Тирацунян С.Г.*  
**СХЕМЫ ИНГИБИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ ВАСЕ-1 И  
АГРЕГАЦИИ АМИЛОИДОГЕННЫХ ПЕПТИДОВ  
ФИТОПРЕПАРАТАМИ**

На сегодняшний день разработка методов эффективного лечения болезни Альцгеймера (БА) является одной из глобальных проблем здравоохранения. Для невропатологии болезни характерно образование нейрофибриллярных клубков, содержащих гиперфосфорилированные белки тау, и сенильных бляшек, состоящих из нерастворимых форм агрегированных  $\beta$ -амилоидных белков ( $A\beta$ ). Последние образуются в результате протеолитического расщепления белка предшественника амилоида  $\beta$ -секретазой (ВАСЕ-1) и их роль в БА подтверждается обширным объемом гистопатологических, генетических исследований. Такими образом, нацеливание на  $A\beta$  и выявление ингибиторов фермента ВАСЕ-1 являются актуальными методами в разработке лекарств против БА. Доступные в настоящее время фармакологические методы лечения затрагивают только симптомы БА и не влияют на прогрессирование болезни [1].

Некоторые соединения растительного происхождения, в том числе артемизинины и их полусинтетические производные, а также флавоноиды, обладают антибактериальными, противовирусными, когнитивно-стимулирующими, антиоксидантными, анти-амилоидогенными свойствами, что делает их интересными в разработке лекарств против БА [2]. Цель данной работы – исследование потенциала ингибирования агрегации пептидов  $12A\beta_{9-40}$ ,  $18A\beta_{9-40}$  и активности ВАСЕ-1-димером дигидроартемизинина (DDHA) и кверцетином (QRC) и сравнение с таковым куркумина (CUR) методами молекулярного моделирования.

3D структуры ВАСЕ-1 [PDB ID: 2WJO], десяти моделей  $12A\beta_{9-40}$  [PDB ID: 2LMN],  $18A\beta_{9-40}$  [PDB ID: 2LMP], в формате PDB взяты из базы данных RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB) [3]. 3D структуры DDHA [CID: 44564070], CUR [CID: 969516], QRC [CID: 5280343] получены из базы данных PubChem [4]. Докинг анализ пептидов и ВАСЕ-1 с DDHA, CUR, QRC проводили программными пакетами AutoDock Tools и AutoDock Vina [5]. Анализ водородных связей и гидрофобных взаимодействий проводили с помощью Ligplot+ [6].

Докинг CUR, DDHA, QRC с  $12A\beta_{9-40}$  выявил гидрофобные взаимодействия с Ala21 цепи D (D), Ala21 (E), Lys28 (F) с энергиями связывания ( $\Delta G_{bind} = -8.2; -10.3; -8.0$  ккал/моль, соответственно). CUR также гидрофобно взаимодействует с Ala21 (F), а DDHA - с Asp23 (E).

Докинг DDHA, CUR, QRC с ВАСЕ-1 выявил гидрофобные взаимодействия с Tyr71 с  $\Delta G_{bind} = -10,1; -8,0; -8,6$  ккал/моль, соответственно (Рис.). CUR и QRC гидрофобно взаимодействуют с Ser35, а CUR взаимодействует с Asp228, который консервативен в активном центре аспарагиновых протеиназ эукариот. Известно, что консервативная молекула

воды (W2) образует три водородные связи с остатками Tyr71, Asn37 и Ser35, образуя непрерывную цепь Trp76-Tyr71-W2-Ser35-Asp32.

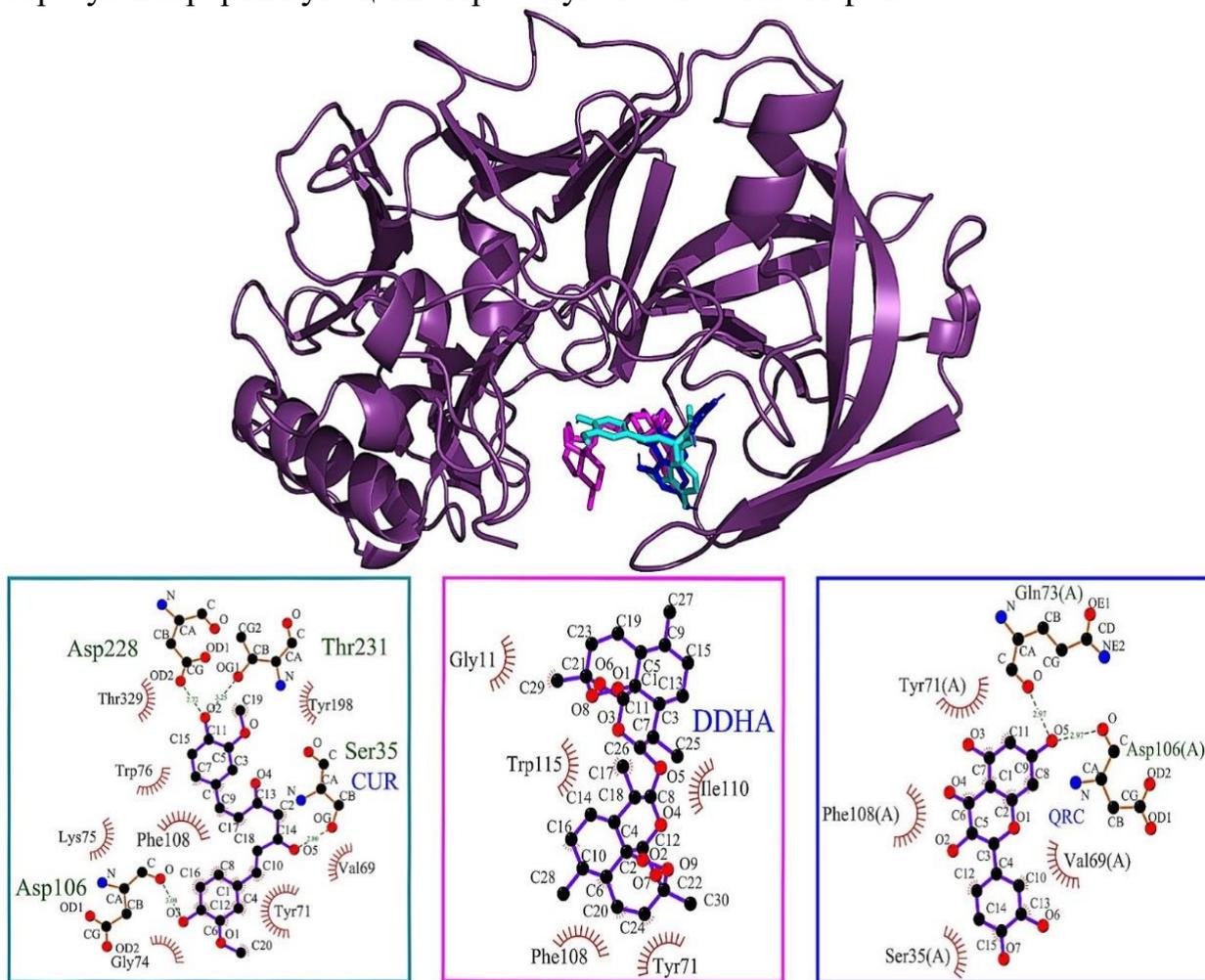


Рис. Докинг DDHA (сиреневый), CUR (бирюзовый), QRC (синий) с BACE-1 (сверху), анализ водородных связей и гидрофобных взаимодействий (снизу).

Докинг DDHA ( $\Delta G_{\text{bind}} = 10,7$  ккал/моль) с  $18A\beta_{9-40}$  выявил гидрофобные взаимодействия с Gly37 (P,Q). CUR ( $\Delta G_{\text{bind}} = -9,5$  ккал/моль) и QRC ( $\Delta G_{\text{bind}} = -9,4$  ккал/моль) гидрофобно взаимодействуют с Ala21(H), Ala21(B), соответственно. Известно, что за образование, рост и стабилизацию амилоидного пептида ответственны Leu17-Ala21, Gly37-Ala42, Lys28-Asp23 [7]. Сравнение результатов взаимодействия исследуемых соединений с амилоидогенными пептидами и с BACE-1 показывает, что аффинность связывания лигандов с обеими мишенями наибольшая для DDHA и может быть расположена в следующем убывающем порядке: DDHA>CUR(QRC)>QRC(CUR).

Согласно полученным результатам все лиганды могут воздействовать на образование и стабилизацию пептида  $12A\beta_{9-40}$ . CUR и QRC могут предотвращать образование, а DDHA- рост  $18A\beta_{9-40}$ .

Таким образом, все лиганды могут препятствовать образованию и стабилизации уже образованного пептида, а DDHA- и росту. При сравнении с

другими лигандами DDHA способен сильнее связываться с BACE-1 и тем самым модулировать активность, что дает возможность рассматривать его в качестве потенциального лидирующего соединения для лечения БА.

Благодарность. Работа выполнена при поддержке Гранта № 10-2/И-4 ГКН МОН РА.

### **Список использованной литературы**

1. Coimbra J. R. M., et al. Highlights in BACE1 inhibitors for Alzheimer's disease treatment //Frontiers in chemistry. – 2018. – Т. 6. – С. 178
2. Shi Z., et al. Resolving neuroinflammation, the therapeutic potential of the anti-malaria drug family of artemisinin. Pharmacol Res, 136, 172-180, 2018
3. Berman H. M. et al. The protein data bank // Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography. 2002. Vol. 58. №. 6. PP. 899-907.
4. Bolton E. E. et al. PubChem: integrated platform of small molecules and biological activities //Annual reports in computational chemistry. Elsevier, 2008. Vol. 4. PP. 217-241.
5. Trott O., Olson A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading //Journal of computational chemistry. 2010. Vol. 31. №. 2. PP. 455-461.
6. Wallace A. C., et al. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions //Protein engineering, design and selection. 1995. Vol. 8. №. 2. PP. 127-134.
7. Mishra, S., Caflisch, A.: Dynamics in the active site of b-secretase: a network analysis of atomistic simulations. // Biochem, 2011. Vol. 50. PP. 9328– 9339.

*Аринченков А.А.*

### **КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК**

В XIX веке английский физиолог С. Рингер разработал солевой раствор, содержащий хлориды натрия, калия, кальция и магния для поддержания биения сердца животных вне организма. В 1885 году Вильгельм Ру установил принцип культивирования тканей, извлек часть костного мозга из куриного эмбриона и держал его в теплом физрастворе в течение нескольких дней. Росс Гранвилл Харрисон, работавший в Медицинской школе Дж. Хопкинса, а затем в Йельском университете, опубликовал результаты своих экспериментов в 1907 –1910 годах, создав методологию культивирования тканей. В 1910 г. Пейтон Раус, работая с культурой клеток саркомы цыпленка, индуцировал образование опухолей у здоровых животных. Позже это привело к открытию онкогенных вирусов (Нобелевская премия по физиологии или медицине 1966 г.).

Методы культивирования клеток получили значительное развитие в 1940-х 1950-х годах в связи с исследованиями в области вирусологии. Выращивание вирусов в культурах клеток дало возможность получения чистого вирусного материала для производства вакцин. Вакцина против

полиомиелита стала одним из первых препаратов, массово произведённых с использованием технологии культивирования клеток. В 1954 г. Эндерс, Уэллер и Роббинс получили Нобелевскую премию «За открытие способности вируса полиомиелита расти в культурах различных тканей». В 1952 г. была получена широко известная линия раковых клеток человека HeLa.

Первичные клеточные культуры готовят из любой эмбриональной ткани животных и человека, поскольку эмбриональные клетки обладают повышенной способностью к росту и размножению.

Культивирование клеток и тканей животных к настоящему времени получило широкое распространение в различных областях исследований, от клеточной до молекулярной биологии, до быстро прогрессирующих прикладных областей биотехнологии.

Более эффективным считается культивирование клеток куриных эмбрионов. Так как эта методика наиболее рациональна и востребована на сегодняшний день.

В отличие от эмбрионов коров, овец, и т.д. куриные эмбрионы более доступны и дешевы в приобретении.

Целью исследования являлось интерпретация существующих методик культивирования культур клеток, для получения первичной культуры куриных эмбрионов.

В опытах по получению первичной культуры клеток куриных эмбрионов использовались куриные эмбрионы 9-10- дневного возраста из хозяйств.

Перед тем как вскрыть яйца, уложенные в лоток, их поверхность обрабатывается 95% раствором спирта. При сильном загрязнении яйца тщательно обжигаются раствором спирта.

Эмбрионы извлекаются в стерильные колбы объемом 2 литра с раствором Хенкса и антибиотиками. После вскрытия эмбрионы трехкратно промывают указанным раствором. Далее после промывки добавляют теплый 0.25% раствор трипсина.

На 330 тушек эмбрионов берут 800 мл. раствора трипсина.

Берется стерильный магнит и опускается в колбу. Колба ставится на магнитную мешалку на 7 минут. Скорость перемешивания должна быть такой, чтобы над магнитом образовалась небольшая воронка.

Через указанное время суспензию клеток сливают в центрифужные флаконы. Немедленно центрифугируют 10-15 мин при 1000 об/ мин. И повторяют процедуру 10 раз.

После центрифугирования трипсин сливают, а к клеточному осадку добавляют раствор Хенкса 200 мл. Далее клеточную суспензию собирают в один флакон, и фильтрую под факелами через марлевый фильтр.

После подсчета клеток в камере Горяева суспензию разводят ростовой питательной средой до посевной концентрации в 1.5 млн. в мл. и разливают в роллерные бутылки, которые помещают в термальную комнату на роллерные тележки со скоростью вращения 10-12 об/час, при температуре 35-38 °С.

Клеточные культуры перед заражением вирусом контролируют макро- и микроскопически. Необходимо просматривать каждый сосуд с клеточной культурой. Клеточный слой должен быть сплошным, фибробласты должны быть характерной веретенообразной формы, без зернистости.

#### **Список использованной литературы**

1. Гальнбек Т.В. Первичные культуры клеток / Т.В. Гальнбек, Л.П. Дьяконов, Б.Т. Стенгний, М.Л. Фридман.
2. Дьяконов Л.П. Методические рекомендации по культивированию первичных культур /Л.П. Дьяконов, М.Т. Гололобова, Д.В. Лобунцова, Т.В. Гальнбек и др.
3. Дьяков Л.П. Культивирование клеток и тканей животных. Учебно-методическое пособие / Л.П. Дьяконов, В.Ф. Глухов, А.А. Поздняков, Г.Ф. Динесенко, Т.П. Калмыкова. – Ставрополь. – часть 1, 1986. – 96 с., часть 2, 1988. – 96с.
4. Аспанидзе Б.П. Первичные и диплоидные культуры клеток плода коровы для вирусологических исследований / Б.П. Аспанидзе. – Авт. дисс. канд. вет. наук, М., 1987

*Астамирова Т.С., Чурилова Т.М.*

### **МЕТОДЫ КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ЖИВОТНЫМ КЛЕТКАМ**

Современная клеточная инженерия является важнейшим инструментом биотехнологии. В ее рамках рассматривается множество теоретических вопросов молекулярной и клеточной биологии, генетики, позволяющие раскрыть механизмы регуляции клеточного цикла, взаимодействия цитоплазмы и ядра, превращения нормальной клетки в опухолевую и др.). В последние годы с ее помощью стало возможным решение практических задач медицины [1].

С помощью методов клеточной инженерии выделены высокопродуктивные линии клеток для создания моноклональных антител, разработаны способы создания новейших вакцин против кори и полиомиелита. В рамках тканевой инженерии стало возможным моделирование тканей и органов, используемых в качестве материала для трансплантации, что позволяет преодолевать целый ряд проблем биоэтики [2].

В настоящее время культуры животных клеток свободно используются в цитологии и биохимии для исследования действия разных факторов на внутриклеточные процессы. В фармакологии эксперименты и исследования на культурах клеток заменяют эксперименты на животных. На практике в медицине культуры животных клеток используют при заживлении глубоких ран и тяжёлых травм.

Одним из важнейших и главных методов клеточной инженерии является клонирование. Это процесс получения генетически идентичных организмов путём бесполого размножения, в том числе вегетативного и партеногенеза. При этом механизмы клонирования реализуются на уровне многократного клонирования генов, участков ДНК. Клонирование – главный инструмент и метод биотехнологии, применяемый для искусственного получения клонов организмов, клеток, молекул. Протекают эти процессы в несколько этапов. Сначала ген ДНК помещается в плазмиду, содержащую бактериальную ДНК, а затем бактерия увеличивает число этих генов. В ходе генетической репликации происходит генетическая экспрессия с образованием белка [3].

Репродуктивное клонирование, точное воспроизведение какого-либо объекта любое количество раз, позволяет точно воспроизвести копии животных.

В процессе репродуктивного клонирования извлекается зрелая соматическая клетка типа клетки кожи животного, предназначенная для клонирования. Затем ДНК соматической клетки животного донора помещается в клетку яйца, или яйцеклетку, у которой устранили её собственную ДНК информацию.

Широко применяется метод клеточной инженерии *in vitro* – культивирование клеток. Это важнейший элемент технологического процесса культивирования тканей и генетической инженерии. Именно он определяет условия выращивания клеток и поддержания их жизнедеятельности [5]. Культивирование клеток *in vitro* – это выращивание клеток бактерий и тканей или многоклеточных организмов в контролируемых условиях отдельно от организма [6]. Под контролируемыми условиями понимается поддержание оптимальной температуры для определенного типа клеток, создание специальной газовой среды, поддерживаемой в инкубаторе клеточных культур, оптимальное соотношение питательных веществ и стимуляторов роста, рН среды и др. Клетки можно выращивать в суспензии, либо в адгезивном состоянии [7].

Культивирование клеток позволяет исследовать и изучать клетки отдельно от организма, без влияний ЦНС, эндокринной и сердечно-сосудистой систем.

Культивирование клеток осуществляется двумя основными способами – поверхностным и глубинным. При поверхностном культивировании клеточный рост культур происходит на поверхности жидкой или сыпучей питательной основы. При глубинном способе культивирования размножение клеток происходит по всему объёму питательной основы.

На сегодняшний день в промышленном масштабе получают ряд важных и значимых веществ и лекарственных средств из растительной биомассы способом *in vitro*. В Японии выпускается ряд лекарственных препаратов, созданных на основе данной технологии – убихинон (из табака),

дигоксин (из наперстянки шерстистой), шикоин (из воробейника аптечного), диосгенин (диоскори дельтовидной).

Метод генетического конструирования *in vivo* (клеточная инженерия) возник в рамках генетической и клеточной инженерии. С его помощью возможно выделение мутантов и их обмен наследственной информацией с живыми микробными клетками. Слияние неполовых клеток с образованием единого целого или же гибридизация соматических клеток – является основой генетической и клеточной инженерии [8]. Генетическое конструирование *in vivo* используется для широкого круга микроорганизмов.

Разновидностью генетического конструирования является конъюгация, относящаяся к наследственной изменчивости. При этом в рамках контакта бактерий, происходит перенос генетического материала из клетки донора в клетку реципиента за счёт фактора фертильности, внехромосомной детерминанты, контролирующей синтез пили [3]. С помощью конъюгации открываются большие возможности для генетического анализа и конструирования штаммов бактерий. В рамках применения конъюгации создаются методы транспозонного мутагенеза и генетической инженерии *in vivo*, значительно ускоряется разработка и создание частной генетики микроорганизмов, имеющей большое значение для промышленных масштабов.

Исследования показали значимость клеточной инженерии как важнейшего инструмента биотехнологии. С помощью ее методов решается множество теоретических вопросов молекулярной и клеточной биологии и генетики.

#### **Список использованной литературы**

1. Вечканов Е.М. Основы клеточной инженерии / Е.М. Вечканов, И.А. Сорокина. – Ростов н /Д : ЮФУ, 2012. – 27 с.
2. Березин И.В. Биотехнология и её перспективы / И.В. Березин, А.К. Яцимирский. – М.: Юнити, 2016. – 256 с.
3. Скурко Е.В., В.Ру. Генно-инженерные биотехнологии. – М.: Мир, 2017. – 156 с.
4. Чечина О.Н. Общая биотехнология / О. Н. Чечина. – М: Юрайт, 2019 г. – 235 с.
5. Беккер М.Е. Введение в биотехнологию. – М.: Пищевая промышленность, 2005. – 230 с.
6. Шванн Т. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Р. Шмид. – М.: Бинوم. Лаборатория знаний, 2014. – 328 с.
7. Блажевич О.В. Культивирование клеток: Курс лекций / О.В. Блажевич. – Мн: БГУ, 2004. – 56 с.
8. Елинов Н.П. Основы биотехнологии: Учеб. / Е.П. Елинов. – СПб.: Агропромиздат, 2015. – 437 с.

## ВЫРАЩИВАНИЕ МОРСКИХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *PAVLOVA LUTHERI* НА МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

Морские микроводоросли являются источником белка и содержат большое количество полиненасыщенных жирных кислот, кроме того имеют в своем составе витамины, полисахариды, каротиноиды [8], поэтому они могут использоваться в сельском хозяйстве в качестве источника питательных веществ для животных и биоудобрений для растений, в фармацевтической, химической и косметической промышленности [3, 7].

Среди всего разнообразия этих микроорганизмов особый интерес представляют морские микроводоросли *Pavlova lutheri*. Они имеют широкое применение в качестве корма для ракообразных и рыб на личиночной стадии, так как содержат ценные питательные компоненты [9]. Рост микроводорослей определяется качеством среды, используемой для их выращивания. Это является одним из ключевых факторов для производства большого количества высококачественной биомассы [2, 4]. Поэтому цель исследования заключалась в подборе оптимального соотношения компонентов питательной среды, которые обеспечивали бы интенсивный рост морских микроводорослей *Pavlova lutheri*.

Определение оптимальных параметров питательной среды для выращивания *Pavlova lutheri* осуществляли в серии из 4 опытов. К 50 мл суспензии микроводоросли добавляли аналогичное количество питательной среды, выращивание осуществляли при круглосуточном освещении фотолюминесцентной лампы и аэрации компрессором, длительность культивирования 168 ч при 20 °С. Начальная концентрация инокулята *Pavlova lutheri* – 8 млн.кл/мл. Прирост биомассы микроводорослей определяли по увеличению числа клеток при подсчете в камере Горяева.

Размеры клеток измеряли в программе Image Tools на фотографиях, сделанных на микроскопе МИКМЕД-6 при увеличении 300. Контролем служила питательная среда, содержащая соединения минеральных веществ, мг/л: Na – 9700; Mg – 1450; K – 410; Ca – 450; Sr – 9,0; Rb – 0,13; Fe – 0,06; Li – 0,14; Cl – 17800;  $SO_4^{2-}$  – 2550; Ba – 40. В качестве источников N и P в питательную среду вносили  $CH_4N_2O$  и  $KH_2PO_4$ , соотношение в контрольной среде N:P = 50 (100 мг/л N, 2 мг/л P). В составе опытных сред использовались те же минеральные вещества в тех же количествах, что и в контроле, но концентрации N и P уменьшали в пропорции: опыт 1 с N:P = 5 (10 мг/л N, 2 мг/л P), опыт 2 с N:P = 10 (20 мг/л N, 2 мг/л P), опыт 3 с N:P = 20 (40 мг/л N, 2 мг/л P) и опыт 4 N:P = 40 (80 мг/л N, 2 мг/л P). Статистическая обработка полученных результатов проводилась в программе MS Excel 2010. Для определения различий между средними значениями производили проверку статистических гипотез с использованием t-критерия Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ).

В результате проведенных исследований было выявлено, что через 168 ч культивирования *Pavlova lutheri* в опыте №4 прирост клеток достоверно

превышал аналогичные значения контроля и составлял 11,5 млн. кл./мл. Установлено, что оптимальной питательной средой для выращивания используемой культуры является среда с концентрациями минеральных веществ, которые использовали в опыте №4 (табл.).

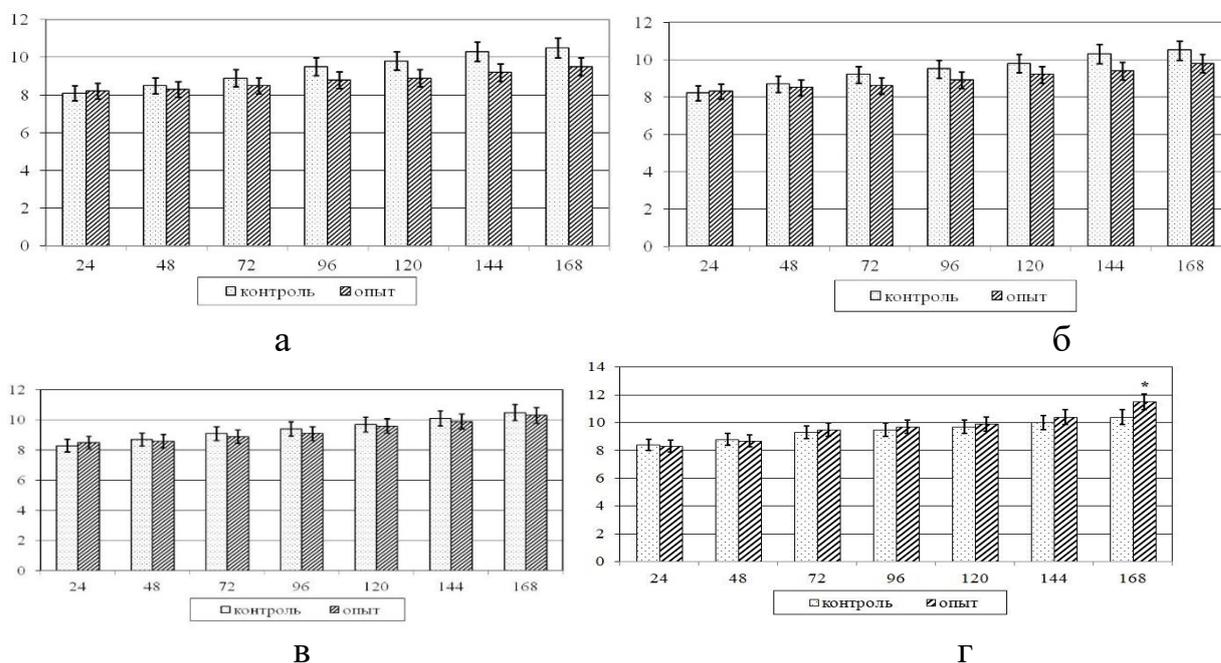


Рис. 1. Серия опытов по влиянию различных концентраций минеральных веществ питательной среды на прирост клеток *Pavlova lutheri* ( $x \pm SE$ ,  $n = 5$ ): а) опыт №1, б) опыт №2, в) опыт №3, г) опыт №4: \* –  $p \leq 0,05$  по  $t$ -критерию при сравнении с контролем.

Размер клеток *Pavlova lutheri* в каждой серии эксперимента находился в пределах значений, характерных для данного вида микроводорослей, клеток с нетипичной формой для данных видов гидробионтов не отмечалось (табл.) [9].

Таблица

Влияние различных концентраций минеральных веществ питательной среды на размер клеток *Pavlova lutheri* ( $x \pm SE$ ,  $n = 5$ )

Опыт серии		Время эксперимента, ч						
		2	4	7	9	1	1	1
		Размер клеток <i>Pavlova lutheri</i> , мкм						
	ко	3.1±0.0	3.5±0.0	3.2±0.0	3.2±0.0	3.2±0.1	3.3±0.0	3.4±0.0
	оп	3.2±0.0	3.3±0.1	3.5±0.0	3.1±0.0	3.4±0.0	3.2±0.0	3.2±0.0
	ко	3.2±0.0	3.2±0.0	3.2±0.0	3.4±0.0	3.1±0.0	3.3±0.0	3.2±0.0
	оп	3.3±0.0	3.3±0.0	3.3±0.0	3.1±0.1	3.0±0.0	3.4±0.0	3.0±0.1
	ко	3.3±0.0	3.2±0.0	3.1±0.0	3.4±0.0	3.1±0.1	3.1±0.1	3.5±0.0
	оп	3.5±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	3.1±0.1	3.2±0.0	3.0±0.0	3.3±0.0
	ко	3.4±0.0	3.2±0.1	3.1±0.0	3.3±0.1	3.1±0.0	3.0±0.0	3.4±0.0
	оп	3.3±0.0	3.1±0.0	3.2±0.2	3.0±0.0	3.0±0.0	3.4±0.0	3.5±0.0

Применение питательных сред с различным составом и концентрациями минеральных солей оказывает неодинаковое действие на

плотность клеток и химический состав микроводорослей [6]. В ряде исследований установлено, что достаточное поступление минеральных веществ в составе питательной среды обеспечивает стабильный прирост клеток и, как следствие, получение большого количества биомассы микроводорослей.

Кроме того, убедительно доказана необходимость применения среды, сбалансированной по минеральным компонентам [1, 5]. В данной работе продемонстрировано, что питательная среда с оптимальным соотношением органических веществ оказывает влияние на увеличение количества клеток *Pavlova lutheri* и их размер. Таким образом, результаты исследований показали, что оптимальной средой, оказывающий стимулирующий эффект на рост клеток микроводоросли *Pavlova lutheri*, является питательная среда, которая имеет следующий состав, мг/л: Na – 9700; Mg – 1450; K – 410; Ca – 450; Sr – 9,0; Rb – 0,13; Fe – 0,06; Li – 0,14; Cl – 17800; SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> – 2550; Ba – 40, N – 80; P – 2 мг/л.

### Список использованной литературы

1. Béchemin, C., Grzebyk, D., Nachame, F., Hummert, C., & Maestrini, S. Y. Effect of different nitrogen/phosphorus nutrient ratios on the toxin content in *Alexandrium minutum*. *Aquatic Microbial Ecology*, 1999, 20(2), 157-165.
2. Carvalho, A., & Malcata, F. Effect of culture media on production of polyunsaturated fatty acids by *Cryptogamie Algologie*, 2000, 21(1), 59–71.
3. de Jesus Raposo, M. F., de Morais, R. M. S. C., & de Morais, A. M. M. B. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. *Life sciences*, 2013, 93(15), 479-486.
4. De Roeck-Holtzhauer, Y., Quere, I., & Claire, C. Vitamin analysis of five planktonic microalgae and one macroalga. *Journal of Applied Phycology*, 1991, 3(3), 259–264.
5. Gérin, S., Delhez, T., Corato, A., Remacle, C., & Franck, F. A novel culture medium for freshwater diatoms promotes efficient photoautotrophic batch production of biomass, fucoxanthin, and eicosapentaenoic acid. *Journal of Applied Phycology*, 2020, 32(3), 1581-1596.
6. Lananan, F., Jusoh, A., Ali, N., Lam, S. S., & Endut, A. Effect of Conway Medium and f/2 Medium on the growth of six genera of South China Sea marine microalgae. *Bioresource Technology*, 2013, 141, 75–82.
7. Maeda, Y., Yoshino, T., Matsunaga, T., Matsumoto, M., & Tanaka, T. Marine microalgae for production of biofuels and chemicals. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 50, 111–120.
8. Raposo, M., de Morais, R., & Bernardo de Morais, A. Bioactivity and Applications of Sulphated Polysaccharides from Marine Microalgae. *Marine Drugs*, 2013, 11(12), 233–252.
9. Shah, S. M. U., Radziah, C. C., Ibrahim, S., Latiff, F., Othman, M. F., & Abdullah, M. A. Effects of photoperiod, salinity and pH on cell growth and lipid content of *Pavlova lutheri*. *Annals of microbiology*, 2014, 64(1), 157-164.

**Гиносян С.В., Грабский О.В., Тирацуйан С.Г.**  
**КВОРУМ-СЕНСИНГА SdiA E. COLI**

Артемизинины (ARTs), сесквитерпеновые триоксановые лактоны, проявляют антиоксидантную, противовоспалительную, антиканцерогенную, иммуномодулирующую, нейропротекторную, противомикробную, антигельминтную, противовирусную и др. активности. Однако, до сих пор не до конца ясны молекулярный механизм их действия, а также биологические мишени [1,2]. ARTs оказывают цитотоксический эффект на грам- и грам+ бактерии [3,4]. В работе [5] для выявления антимикробной активности ART и его производных, артесуната и дигидроартемизинина (DHA), использовались методы серийных разведений и штамповки на агаровых пластинках в отношении *E. coli* и *S. aureus* при различных концентрациях в пределах 5 ммоль/л и при четырех временных значениях (8, 16, 24, 32 ч). Было показано, что DHA и артесунат проявляют большую антибактериальную активность против *E. coli*, чем ART [5]. Обнаружено, что артесунат может ингибировать основную помпу множественной лекарственной устойчивости AcrAB-TolC, тем самым усиливая антибактериальный эффект различных  $\beta$ -лактамных антибиотиков против *E. coli* [6].

В *in vitro* экспериментах нами показано, что ART в концентрациях меньше 3 мкМ/мл, проявляет очень слабое подавляющее действие на рост *S. aureus* и практически не оказывает действия на *E. coli*. DHA также оказывает слабое действие, однако превышающее ингибиторное действие ART (данные не приводятся). Результаты наших работ в целом согласуются с литературными данными [5]. *E. coli* способна образовывать биопленки [7]. Факторы вирулентности и образование биопленок регулируются системой коммуникации – кворум-сенсингом (QS) *E. coli*, способной реагировать на химические молекулы, известные как аутоиндукторы (AI). Супрессор ингибитора деления A (SdiA) представляет собой рецептор, воспринимающий сигнал QS, присутствующий в *E. coli*, который связывается с AI типа ацил-гомосерин-лактон [8]. SdiA реагирует на AI, продуцируемые другими бактериями для контроля деления клеток и вирулентности. SdiA регулируется 1-октаноил-рац-глицеролом (OCL), который встречается повсеместно и служит источником энергии, AI и субстратом для биогенеза мембран [9]. Целью данной работы являлось изучение взаимодействия ART, DHA с SdiA и сравнение с OCL.

3D структура SdiA с OCL [PDB ID: 4Y13] получена из банка данных RCSB PDB. Программа MedusaDock [10] использовалась для гибкого докинга. 3D структуры ART [CID:68827], DHA [CID:456410] получены из базы данных PubChem. Топологии лигандов для докинг анализа построены с помощью программы Ascpure [11]. Гидрофобные взаимодействия и водородные связи (H-связи) анализировали с помощью Ligplot<sup>+</sup> [12].

Значение RMSD между двумя наложенными друг на друга конформациями со-кристаллизованного лиганда OCL, связанного с SdiA, и

его конформации, полученной после ре-докинга, составляло 1.783 Å (Рис. 1а). Значение RMSD для полученной нами конформации OCL меньше 2,0 Å, что указывает на хорошее качество прогноза [13].

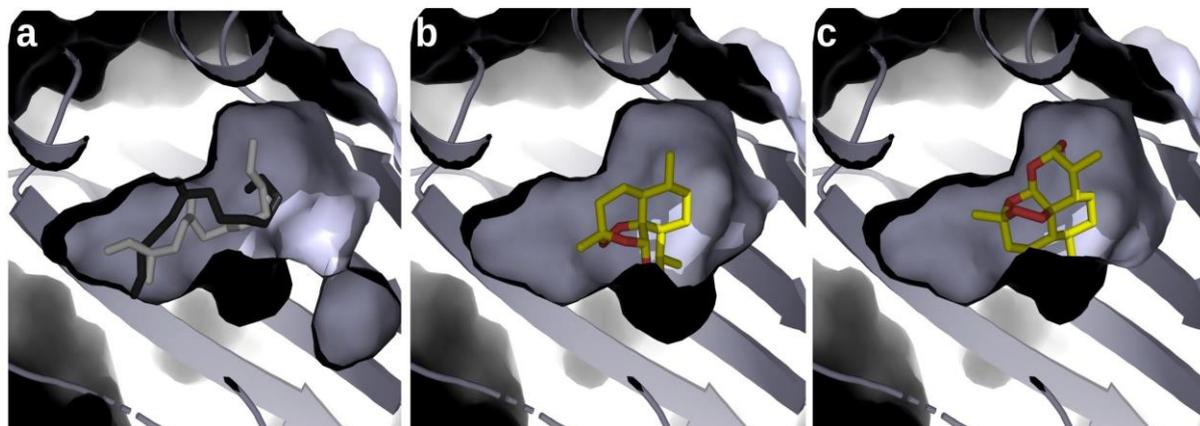


Рис. 1. Наложение конформации докинга OCL (серый) с его кристаллографической структурой (черный) (а). Докинг анализ ART (b) и DHA (c) с SdiA.

Наши результаты показали, что ART и DHA взаимодействуют с большинством аминокислот лиганд-связывающего домена (LBD) SdiA, с которым связывается OCL. При этом наблюдается участие эндопероксидного мостика ART и DHA во взаимодействии с SdiA (Рис. 1bc,2).

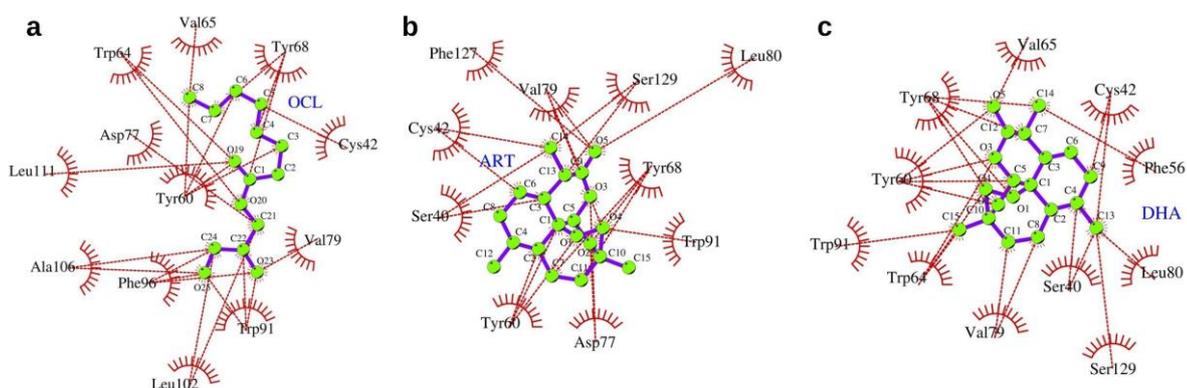


Рис. 2. Анализ Н-связей и гидрофобных взаимодействий OCL (а), ART (b) и DHA (c) с SdiA.

Оба связываются с кристаллической структурой SdiA с большей аффинностью, чем OCL (-29,6284, -26,2508, -24,7487 ккал/моль, соответственно). Наши результаты показали, что ART и DHA взаимодействуют с большинством аминокислот LBD SdiA, с которым связывается OCL. В процесс взаимодействия с SdiA вовлечен эндопероксидный мостик ART и DHA (Рис. 2). Известно, что биологическая активность ARTs, приводящая к гибели клеток, в основном связана с эндопероксидным мостиком [14]. ART и DHA связываются с SdiA с более высокой аффинностью связывания, чем OCL, что может привести к

ингибированию регуляторной сети QS при отсутствии цитотоксического действия. Это в свою очередь приведет к снижению воспалительного фона и может быть одной из причин нейропротекторного действия ART. Можно сделать вывод, что ART и DHA могут быть потенциальными ингибиторами SdiA.

Благодарность. Работа выполнена при поддержке Гранта № 10-2/1-4 ГКН МОН РА.

### Список использованной литературы

1. Ho W.E. et al. Artemisinins: pharmacological actions beyond anti-malarial // *Pharmacol. Ther.* 2014. Vol. 142, № 1. P. 126–139.
2. Yi-Fei Dai et al. The pharmacological activities and mechanisms of artemisinin and its derivatives: a systematic review // *Med. Chem. Res.* 2017. Vol. 26, № 5. P. 867–880.
3. Slade D. et al. Antiprotozoal, anticancer and antimicrobial activities of dihydroartemisinin acetal dimers and monomers // *Bioorg. Med. Chem.* 2009. Vol. 17, № 23. P. 7949–7957.
4. Appalasaamy S. et al. Antimicrobial Activity of Artemisinin and Precursor Derived from *In Vitro* Plantlets of *Artemisia annua* L. // *BioMed Res. Int.* 2014. Vol. 2014. P. 1–6.
5. Huang M. et al. [Preliminary study on antibacterial activity of artemisinin and its derivatives] // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi Zhongguo Zhongyao Zazhi China J. Chin. Mater. Medica.* 2019. Vol. 44, № 9. P. 1946–1952.
6. Li B. et al. Artesunate enhances the antibacterial effect of  $\beta$ -lactam antibiotics against *Escherichia coli* by increasing antibiotic accumulation via inhibition of the multidrug efflux pump system AcrAB-TolC // *J. Antimicrob. Chemother.* 2011. Vol. 66, № 4. P. 769–777.
7. Kanamaru K. et al. SdiA, an *Escherichia coli* homologue of quorum-sensing regulators, controls the expression of virulence factors in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 // *Mol. Microbiol.* 2000. Vol. 38, № 4. P. 805–816.
8. Kim T. et al. Structural insights into the molecular mechanism of *Escherichia coli* SdiA, a quorum-sensing receptor // *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2014. Vol. 70, № Pt 3. P. 694–707.
9. Nguyen Y. et al. Structural and mechanistic roles of novel chemical ligands on the SdiA quorum-sensing transcription regulator // *MBio. Am Soc Microbiol*, 2015. Vol. 6, № 2. P. e02429-14.
10. Ding F., Yin S., Dokholyan N.V. Rapid Flexible Docking Using a Stochastic Rotamer Library of Ligands // *J. Chem. Inf. Model.* 2010. Vol. 50, № 9. P. 1623–1632.
11. Alan W Sousa da Silva, Wim F Vranken. ACPYPE - AnteChamber PYthon Parser interface // *BMC Res. Notes.* 2012. Vol. 5, № 1. P. 367.
12. Andrew C. Wallace, Roman A. Laskowski, Janet M. Thornton. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand

interactions // Protein Eng. Des. Sel. 1995. Vol. 8, № 2. P. 127–134.

13. Oleg Trott, Arthur J. Olson. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading // J. Comput. Chem. 2010. Vol. 31, № 2. P. 455–461.

14. V. Navaratnam et al. Pharmacokinetics of artemisinin-type compounds // Clin. Pharmacokinet. 2000. Vol. 39, № 4. P. 255–270.

*Гнусина Н. В., Гусева Е. С.*

## **ТРЕБОВАНИЯ К ФИЛЬТРАЦИИ СТЕРИЛЬНЫХ РАСТВОРОВ В УСЛОВИЯХ GMP**

При производстве лекарственных средств, выпускаемых в виде стерильных растворов, нормативные требования GMP по организации производства и контролю качества лекарственных средств обязывают производителей соблюдать стандарты высочайшего качества продукции, а также документирование эффективности производственных процессов и соответственно предъявляемым к ним требованиям по качеству и безопасности. Важнейшим процессом производства стерильных растворов является процесс фильтрации. Для достижения уровня гарантированной стерильности лекарственных средств, в производстве применяют системы фильтрации, включающие фильтры стерилизующего уровня.

На предприятии ОАО НПК «ЭСКОМ» фильтрация применяется на различных стадиях производства растворов и делится на несколько этапов: предварительную фильтрацию и стерилизацию для удаления микроорганизмов. Так же в зависимости от технологического процесса и необходимого финального результата фильтрация применяется для обесцвечивания растворов, отделения мелких взвешенных частиц и удаления бактериальных эндотоксинов.

Для подбора необходимой линейки фильтров к конкретному лекарственному средству должны быть подтверждены (валидированы) производителем самостоятельно показатели удерживающей способности фильтра (микробиологические испытания), целостность, химическая совместимость фильтруемого раствора и материала из которого изготовлены системы фильтрации, адсорбционные характеристики.

Одним из ярких примеров проведения работ по подбору, масштабированию и внедрению в производство системы фильтрации, является фильтрация препарата Кальция глюконат раствора для внутривенного и внутримышечного введения 100 мг/мл. Совместные работы по подбору фильтров и системы фильтрации проводились специалистами ОАО НПК «ЭСКОМ» и компанией НПП «Технофильтр».

Так как лекарственный препарат Кальция глюконат раствор для внутривенного и внутримышечного введения 100 мг/мл, представляет собой насыщенный раствор, и может выпадать в осадок, при его производстве

используется стабилизатор. При использовании стабилизатора у раствора появляется легкий оттенок желтоватого цвета.

Для решения данной задачи по осветлению раствора используют адсорбционную глубинную фильтрацию. На первом этапе специалисты НПП «Технофильтр», разработали и предложили четыре вида фильтров, с содержанием различных марок активированного угля, который используется в фармацевтической промышленности для удаления примесей. Из четырех видов методом испытаний на площадке ОАО НПК «ЭСКОМ» по полученным результатам, выбрали образец с нейтральной маркой активированного угля и провели процесс качественного обесцвечивания.

На втором этапе для эффективного удаления мелких взвешенных частиц осуществили подбор фильтров для предварительной фильтрации, состоящей из двух ступеней. Первая ступень фильтр с размером пор 0,5 мкм, вторая ступень фильтр с размером пор 0,2 мкм.

На третьем этапе и самом важном согласно требованиям GMP, осуществляется тонкая, финишная очистка выполняющая задачу стерилизации раствора. Для выполнения данной задачи требуются надежные мембранные фильтры с абсолютным размером пор, для удержания микроорганизмов определенного размера, разработанные с учетом установленных нормативных стандартов эффективности и сертификации производителем целостности фильтра.

В соответствии с требованиями международного стандарта GMP и приказа № 916 Министерства промышленности РФ об утверждении Правил надлежащей производственной практики, на любом фармацевтическом предприятии производители стерильных растворов обязаны проверять стерилизующие фильтры на целостность. Для этих целей компанией НПП «Технофильтр» разработан и производится прибор для диагностики целостности фильтров «Техночек».

Правила GMP рекомендуют устанавливать стерилизующие фильтры как можно ближе к месту наполнения и укупорки раствора, проверять стерилизующие системы фильтрации до начала работы и обязательной подтверждать проверкой на целостность после завершения процесса фильтрации. Таким образом, исключается возможность получения некачественного продукта из-за попадания в раствор посторонних механических включений и дефекта стерилизующей мембраны фильтра.

### **Список использованной литературы**

1. Мешковский А.П. К 50-летию GMP: Первые правила GMP: зарождение концепции фармацевтического качества (сообщение 3) / А.П. Мешковский Ж.И. Аладышева, Н.В. Пятигорская, В.В. Береговых, Э.А. Сапожникова // Ремедиум. – 2013. – № 4. – С. 34-38.

2. Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 N 916 (ред. от 18.12.2015) «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики» – 2013. – С. 70-82.

## **САМОИНСПЕКЦИЯ (ВНУТРЕННИЙ АУДИТ) КАК ЭЛЕМЕНТ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ КАЧЕСТВА**

Актуальность управления качеством на предприятиях фармацевтической отрасли определяется его направленностью на формирование и обеспечение высокого уровня качества, эффективности и безопасности лекарственных средств. При этом само по себе качество является универсальной категорией, включающей в себя технические, экономические, организационные, социальные и правовые аспекты.

Цель – изучить процедуру проведения самоинспекции (внутреннего аудита), а также роль проведения внутреннего аудита, в соответствии с которым оценивается эффективность фармацевтической системы качества и производственных процессов.

Задачи:

- изучить процедуру проведения самоинспекции (внутреннего аудита) на фармацевтических предприятиях на соответствие требованиям Правил надлежащей производственной практики (GMP);
- изучить роль внутреннего аудита в управлении фармацевтической системой качества.

Методы исследования – теоретическое изучение литературы по проблеме исследования.

Анализ методической литературы показал, что современные мировые представления о ключевых факторах, определяющих надлежащее качество продукции, приоритетное место отводят грамотному управлению. Именно фармацевтическая система управления качества связывает требования и процессы с персоналом, ресурсами и финансами, организуя деятельность по выпуску продукции [1].

ФСК разрабатывается согласно требованиям Правил надлежащей производственной практики и отвечает, как интересам потребителей, так и интересам самого производителя. ФСК при производстве лекарственных средств должна гарантировать соблюдение показателей качества на всех этапах разработки, производства, хранения и сбыта лекарственного препарата, а так же предусматривать процедуру внутреннего и внешнего аудита для оценки эффективности использования данной системы качества. На отечественном и международном рынке производителям лекарственных препаратов необходимо пройти сертификацию по Правилам GMP, то есть внешний аудит. В виду этого внутренний аудит является инструментом в качестве самооценки и подготовки к внешним аудитам.

ФСК должна быть оформлена документально, ее элементы укомплектованы персоналом и обеспечены надлежащими помещениями, оборудованием и техническими средствами. На сегодняшний день согласно требованиям Правил надлежащей производственной практики (GMP) самоинспекция должна проводиться на регулярной основе с целью оценки

соответствия производителя во всех аспектах производства и контроля качества и является элементом ФСК [5].

Самоинспекция проводится с целью проверки выполнения производителем требований Правил надлежащей производственной практики и предложения необходимых корректирующих действий [3, 5]. Отчеты, составленные по результатам самоинспекций, должны включать в себя всю полученную информацию и необходимые корректирующие действия [4]. Действия, предпринимаемые по результатам проведенных самоинспекций, также следует оформлять документально.

Самоинспекция должна проводиться независимо и тщательно специально назначенным квалифицированным лицом (лицами), состоящим в штате предприятия [5]. При необходимости может быть проведен независимый аудит экспертами сторонних организаций. Для организации процесса самоинспекции необходимо: наличие документально оформленных требований, устанавливающих порядок проведения самоинспекции; разработка программы и графика проведения самоинспекции в подразделениях предприятия; подготовка отчета; разработка плана корректирующих и предупреждающих действий и контроль его выполнения. Разработка графика и программы самоинспекций составляются в начале года. Самоинспекции бывают следующих видов: плановая (согласно программе и графику) и внеплановая.

При проведении самоинспекции следует использовать оценочные критерии: соответствие, несоответствие (критическое, существенное, несущественное), которые аудитор должен фиксировать в отчете по аудиту. Аудитор несет ответственность за разъяснение требований самоинспекции, за документирование, проверку эффективности корректирующих и предупреждающих действий, принятых по результатам самоинспекции. Важная составляющая программы самоинспекции является обучение аудиторов, оно может проходить по внутренним или внешним программам. В рамках проведения самоинспекции на предприятии подразумеваются проверки технологических процессов или процедур, которые влияют непосредственно на качество лекарственных препаратов.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что проведение самоинспекции (внутреннего аудита) предприятия является обязанностью каждого производителя лекарственных препаратов. Самоинспекция является одним из важных элементов управления ФСК на предприятии, дает возможность получить достоверную информацию соответствия производства Правилам надлежащей производственной практики GMP. С помощью проведения самоинспекции предприятие определяет эффективность фармацевтической системы качества и возможность улучшения деятельности работы всего предприятия.

### **Список использованной литературы**

1. Воронцова А.В. Анализ системы управления качеством, соответствующей требованиям стандарта GMP, на предприятии фармацевтической промышленности / А.В. Воронцова, О.А. Травина // Евразийский Союз Ученых, 2017. – №12 – 1. – с. 35. – 38.
2. Орлов В.А., Проблемы классификации несоответствий требованиям GMP: регуляторный опыт / В.А. Орлов, В.Н. Шестаков // Журнал Ремедиум, №1-2, 2019 – с. 48 – 54.
3. Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 (ред. От 18.12.2015) «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики».
4. Пятигорская Н.В. Структурированный подход к проведению самоинспекции фармацевтической системы качества на производстве лекарственных средств / Н.В. Пятигорская, Н.С. Ивашечкова, В.В. Береговых и др. // Ремедиум, 2017. – №10 – с. 48 – 54.
5. Решение совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 77 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза».

*Кадиева Е.С., Топчий М.В.*

## **БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ГЕПАРИНОВ**

Тромбозы и тромбоэмболические осложнения остаются основной причиной заболеваемости и смертности в развитых странах. Ежегодно в разных странах мира тромбоз глубоких вен и ТЭЛА диагностируются у 100–160 человек на 100 000 населения. Около 30% из них умирают в ближайший месяц после возникновения тромба, еще у 20% больных в течение последующих двух лет развивается рецидив заболевания [1].

Для профилактики и лечения тромбозов и тромбоэмболических осложнений в течение многих десятилетий широко применялись антикоагулянты. Одним из компонентов таких лекарственных препаратов является гепарин. Как антикоагулянт он был открыт в 1916 году в лаборатории известного физиолога Howell студентом Jay Mclean, проводившим эксперименты на собаках по выявлению прокоагулянтов (фосфолипидов). Вещество с антикоагулянтными свойствами студентом-медиком из Университета Jons Hopkins в Балтиморе было выделено случайно вместо прокоагулянта. Хотя первооткрыватель предполагал, что гепарин обладает терапевтическими свойствами, первоначально он использовал его только в качестве лабораторного реагента для предотвращения свертывания крови в пробирке [2].

Со временем препараты нефракционированного гепарина (НФГ) стали широко использоваться в качестве антикоагулянта в хирургической практике, для профилактики и лечения тромбоза, тромбоза, тромбоза, инфаркта миокарда и т. д., а также в аппаратах искусственного кровообращения и гемодиализа [3]. Однако было обнаружено, что НФГ имеет серьезные недостатки, такие как

возможность геморрагического кровотечения, тромбоцитопении, остеопороза, гиперкалиемии, различных проявлений аллергии, необходимость повторного введения в течение дня под контролем параметров свертывания крови. Наличие таких побочных эффектов у НФГ повлекло за собой во второй половине 1980-х годов создание низкомолекулярных гепаринов (НМГ) [4].

Теоретическое исследование технологии биотехнологического производства низкомолекулярных гепаринов (НМГ) и его стадий, изучение эффективности препарата представляет большой научный интерес.

Гепарин считается линейным, структурно сложным полимером, который состоит из сочетания цепей неодинакового размера с изменяющейся последовательностью, имеет самую большую плотность отрицательного заряда среди всех известных биомолекул. Он состоит из повторяющихся, в основном, дисахаридных мономеров D-глюкозаминовой и L-идуроновой или глюкуроновой кислот. Гепарин образуется с помощью тучных клеток соединительной ткани и имеется только в тех тканях млекопитающих организмов, у которых есть клеточные элементы, а именно в стенках кровеносных сосудов, лёгких, селезёнке и печени. Гепарин имеет антикоагулянтное свойство благодаря тому, что он взаимодействует с антитромбином, который является ингибитором тромбина, и другими агентами свертывания крови, в основном Ха, IXa [3].

НМГ более активны в замедлении фактора Ха и оказывают на тромбин (фактор II) меньшее влияние. Соотношение анти-Ха к анти-IIa (антитромбин) в различных НМГ варьируется от 2:1 до 4:1. Так, подавление фактора свертывания НМГ Ха выражено намного лучше, чем влияние на активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), в то время как у НФГ отношение анти-Ха активности к АЧТВ составляет 1:1. Это намного лучше влияет на переносимость и продуктивность НМГ и, следовательно, на предстоящую антитромботическую активность и вероятность кровотечения [4].

Гепарин является антикоагулянтом прямого воздействия, синтезируемый специфическими клетками теплокровных животных. В наши дни его извлекают из легких крупных рогатых животных и чаще всего из слизистой части кишечника свиней путем экстракции с последующей очисткой сырого гепарина. Первым способом получения НМГ является ферментативная деполимеризация НФГ с использованием гепариназы, которая была выделена из *Flavobacterium heparinum*. Для этого брали гепарин натрия с молекулярной массой 17,3 кДа. Затем НФГ растворяли в 0,1М ацетате натрия и 0,01 М ацетате кальция. В полученный раствор добавляли гепариназу, которую растворили в 0,1М ацетате натрия. Полученную смесь непрерывно перемешивали при постоянной температуре – 30°C. В результате получили НМГ, у которых средняя молекулярная масса была около 5 кДа. Для улучшения технологии предлагается применять биотехнологическую процедуру деполимеризации НФГ на иммобилизованном ферментном комплексе [4].

Технология производства НМГ предполагает три стадии.

На первой стадии осуществляется деполимеризация НФГ и фракционирование этанолом. Гепарин натрия, который был получен из мукозы свиньи, растворяют в дистиллированной воде до получения концентрации около 10%. С помощью концентрированной соляной кислоты доводят значение рН раствора до 2,5. Процесс деполимеризации проводят под постоянным контролем. С помощью гидроксида натрия рН доводят до 10,0 и к раствору добавляют боргидрид натрия ( $\text{NaBH}_4$ ). Мешают смесь в течение 15 часов, а далее при помощи соляной кислоты концентрированной доводят рН до 3,5-4,0 с целью разрушить избыток боргидрата натрия. Далее гидроксидом натрия рН доводят до значения 7,0. К смеси приливают 2 объема этилового спирта для осаждения желаемого продукта. Выделяют и растворяют осадок в чистой воде, а затем подмешивают хлорид натрия до указанного значения ионной силы, определяемого кондуктометрическим методом. рН раствора доводят до 4,0 с помощью соляной кислоты и добавляют 1 объем этанола для осаждения гепарина. Смесь выдерживают около 60 часов и удаляют водно-спиртовой слой для получения осадка НМГ (надропарина), который будет находиться в натриевой форме. Далее осадок растворяют до концентрации примерно 18% в очищенной воде и доводят рН до 7,0 раствором гидроксида натрия. С помощью картриджа, у которого размер пор составляет 0,2 мкм, раствор подвергается стерилизующей фильтрации.

На второй стадии полученные продукты обрабатывают ультрафиолетом. Исследования биологических и физико-химических свойств полученных препаратов показывают, что ультрафиолетовая обработка не изменяет свойства надропарина и не приводит к его деградации. Молекулярная масса препарата составляет в среднем примерно 5кДа. Эффективность против факторов: Ха – 124 МЕ/мг и Па – 30 МЕ/мг [3]. На данном этапе идет обработка ультрафиолетовым светом в течение 9-10 минут при 4,8 литрах в час при комнатной температуре и рН раствора примерно 7,0. Полученный раствор вводится в специально предназначенную систему облучения и циркулирует со скоростью 19 л/ч в течение 16 часов при температуре 30°C с помощью перистальтического насоса.

Деполимеризацию также можно достичь с использованием излучения высокой энергии, например, такой как  $\gamma$ -излучения при наличии органических растворителей: спиртов (изопропиловый, этиловый и метиловый); простых эфиров (диоксан, тетрагидрофуран); альдегидов (формальдегид, ацетальдегид). Ученые считают, что требуется как минимум две стадии облучения, а на последующих стадиях происходит полная деполимеризация гепарина при облучении гамма-лучами. Были предложены некоторые источники гамма-излучения:  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ . Предлагается проводить обработку материала облучением при 100–200КГу в присутствии азота.

Хроматографическая очистка и превращение в соль кальция являются содержанием третьего этапа. Анионообменной хроматографии подвергают раствор надропарина натрия. Хлорид натрия добавляют к фракции собранных и очищенных НМГ и осаждают 1,5 объёмами этанола. Инкубируют смесь примерно 41 час и супернатант удаляют. Гепариновый осадок в дистиллированной воде растворяют до концентрации примерно 18%, добавляют гексагидрат хлорида кальция и смешивают. Добавляют к смеси 1,5 объёма этанола, полученный осадок выделяют и высушивают при температуре не более 60°C [4].

Исследователи и ученые пришли к выводу, что способ получения НМГ может значительно повлиять на их фармакокинетику и антикоагулянтную активность. Так, например, Фрагмин не имеет отрицательно заряженных сульфоаминогрупп в отличие от Логипарина и Эноксапарина. Помимо этого, стоит обратить внимание на то, что НМГ посвящено большое количество литературы, в том числе о способах получения продукта. Однако механизм процесса деполимеризации до сих пор до конца не изучен.

Согласно литературным данным, многие исследователи считают НМГ такими же сильными, как и НФГ. При этом лекарственные средства НМГ имеют ряд преимуществ, ведь они доставляют гораздо меньше проблем и осложнений.

#### **Список использованной литературы**

1. Савельев В.С. Флебология: Руководство для врачей / В.С.Савельев, В.А. Гологорский, А.И. Кириенко и др.: Под ред. В.С. Савельева. – М.: Медицина, 2001. – 664с.
2. Макацария А.Д. Системный венозный и артериальный тромбоземболизм в акушерско-гинекологической практике / А.Д. Макацария, Б. Бреннер, В.О.Бицадзе, С.В. Акиншина – М., 2016. – 995 с.
3. Козлов А.А., Методы определения активности гепарина: учебно-методическое пособие / А.Л. Берковский, Е.В.Сергеева, А.В.Суворов, А.Л. Мелкумян, А.А Козлов, Е.А. Нешкова, Г.А. – М.: 2015. – 64 с
4. Краснопольский Ю.М. Фармацевтическая биотехнология: Производство биологически активных веществ: учеб. пособие: в 2ч. – Ч.1 / Ю.М. Краснопольский, Н.Ф. Клещев – Харьков: НТУ «ХПИ», 2013. – 304 с.

*Кобец Ю.Е., Дитченко Т.И.*

#### **СТИМУЛЯЦИЯ ПРОДУКЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ КУЛЬТУРОЙ КЛЕТОК АЛТЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИОТИЧЕСКИХ ЭЛИСИТОРОВ**

Биотехнология лекарственных растений базируется на использовании в качестве продуцентов биологически активных веществ культивируемых *in vitro* клеток, тканей и органов, в т.ч. генетически модифицированных. По сравнению с традиционным лекарственным сырьем культуры клеток имеют

такие преимущества, как гарантированное круглогодичное получение экологически чистых целевых продуктов независимо от климатических, сезонных, погодных условий, возможность стандартизации и автоматизации процессов культивирования, создание линий-сверхпродуцентов на основе управления составом питательной среды и физическими параметрами.

Одним из способов увеличения уровней накопления фармакологически важных соединений в культурах растительных клеток и тканей является обработка элиситорами, действие которых направлено на активацию защитной реакции растительной клетки путём синтеза фитоалексинов, в частности фенольных соединений. Элиситоры разного происхождения широко используются в работах с культурами клеток, тканей и органов растений [1-3]. Некоторые из них продуцируются микроорганизмами, другие образуются при ферментативном расщеплении высокополимерных соединений кутикулы и полисахаридов клеточных стенок растений и микроорганизмов, третьи представляют собой стрессовые фитогормоны, синтез которых в растениях индуцируется патогенами и абиогенными стрессорами. В качестве широко применяемых биотических элиситоров выступают дрожжевой экстракт (ДЭ) и метилжасмонат (МеЖ).

Поскольку результаты элиситации разных клеточных культур могут существенно варьировать, то подбор оптимальных режимов использования элиситоров является актуальной задачей при создании клеточных линий-продуцентов экономически важных биологически активных соединений. Целью настоящей работы явилось исследование особенностей однокомпонентного и сочетанного воздействия разных концентраций ДЭ и МеЖ на уровни накопления вторичных метаболитов фенольной природы в клетках суспензионной культуры *Althaea officinalis* L.

Надземные и подземные части алтея лекарственного содержат достаточно высокий уровень хлорогеновой кислоты и других фенолокислот, биофлавоноидов и дубильных веществ, что позволяет рассматривать данное лекарственное растение в качестве перспективного источника природного сырья для получения препаратов антиоксидантного, противовоспалительного, Р-витаминного действия.

Способность к синтезу вторичных метаболитов фенольной природы сохраняют и культуры клеток алтея лекарственного [4]. Объектом исследования в настоящей работе служила суспензионная культура *Althaea officinalis* L., которую выращивали на питательной среде по прописи Мурасиге и Скуга, дополненной 30 г/л сахарозы, 0,2 мг/л 2,4-Д, 1 мг/л ИУК, 0,5 мг/л кинетина.

Использовалась технология двухстадийного культивирования: первый этап – обеспечение активного прироста биомассы культуры, второй – создание условий для продукции целевых вторичных метаболитов. В связи с этим добавление элиситоров в питательные среды осуществляли на 13-е сут культивирования, т.е. в конце фазы логарифмического роста, анализ данных

по содержанию в клетках фенолокислот и флавоноидов производили на 15-е сут.

В первой серии экспериментов клетки суспензионной культуры инкубировали в течение 2 суток в присутствии 100-1000 мг/л ДЭ. Во второй серии осуществлялась совместная обработка культуры обоими элиситорами. Для этого на 13-е сутки цикла выращивания в питательные среды вносили указанные выше концентрации ДЭ и добавляли МеЖ в концентрации  $10^{-5}$  моль/л,  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л либо  $10^{-4}$  моль/л. Количественное определение содержания фенолокислот в пересчете на галловую кислоту, флавоноидов в пересчете на кверцетин производили с помощью спектрофотометрического метода.

В результате однокомпонентного воздействия ДЭ на клетки суспензионной культуры *Althaea officinalis* L. наиболее высокие уровни накопления фенолокислот и флавоноидов отмечались в присутствии 1000 мг/л исследуемого элиситора. Стимуляция биосинтеза фенолокислот достигала в среднем 1,8 раза относительно контрольного варианта. Содержание флавоноидов возрастало более чем в 3 раза. Одновременная обработка клеток суспензионной культуры ДЭ и  $10^{-5}$  моль/л МеЖ приводила к тому, что выраженный стимулирующий эффект наблюдался при действии более низких концентраций ДЭ (100-500 мг/л).

В частности, практически равные уровни накопления фенолокислот отмечались при сочетанном влиянии 250 мг/л ДЭ и  $10^{-5}$  моль/л МеЖ, а также в результате однокомпонентного воздействия 1000 мг/л ДЭ. Максимальная продукция исследуемых вторичных метаболитов суспензионной культурой *Althaea officinalis* L. обнаружена при совместном использовании 500 мг/л ДЭ и  $10^{-5}$  моль/л МеЖ – в 2,33 раза по сравнению с необработанными клетками. Повышение концентрации МеЖ до  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л на фоне 250-500 мг/л ДЭ сопровождалось снижением величины стимулирующего эффекта. Только в одном варианте (100 мг/л ДЭ) отмечен статистически достоверный рост содержания фенолокислот в результате воздействия  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л МеЖ по сравнению с действием более низкой его концентрации. В случае обработки клеток суспензионной культуры алтея лекарственного  $10^{-5}$  либо  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л МеЖ на фоне 1000 мг/л ДЭ стимулирующий эффект проявлялся в равной степени. Использование  $10^{-4}$  моль/л МеЖ в сочетании с ДЭ приводило к ингибированию положительного эффекта 250-500 мг/л ДЭ.

В результате уровни накопления фенолокислот не отличались от контрольного варианта. В присутствии 100 и 1000 мг/л ДЭ дополнительное внесение в среду инкубации клеток суспензионной культуры  $10^{-4}$  моль/л МеЖ не вызывало усиления биосинтеза фенолокислот. Аналогичный характер обнаружен и в результате сочетанного воздействия 100-500 мг/л ДЭ и МеЖ в концентрации  $10^{-5}$  либо  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л на уровни накопления флавоноидов. Во всех указанных вариантах использование МеЖ на фоне ДЭ не приводило к усилению стимулирующего эффекта.

При использовании самой высокой из испытанных концентраций ДЭ (1000 мг/л) дополнительное внесение в питательную среду МеЖ сопровождалось подавлением положительного влияния. Среди испытанных комбинаций исследуемых биотических элиситоров синергетический эффект обнаружен только в присутствии 250 мг/л ДЭ и  $10^{-4}$  моль/л МеЖ. Рост содержания флавоноидов составил 2,77 раза относительно необработанных клеток.

Таким образом, сочетанное воздействие ДЭ и МеЖ целесообразно для повышения уровней накопления фенолоксилов в клетках суспензионной культуры алтея лекарственного. Показано, что использование МеЖ обеспечивает усиление стимулирующего влияния 100-500 мг/л ДЭ. При этом наиболее эффективной комбинацией является 500 мг/л ДЭ и  $10^{-5}$  моль/л МеЖ. Можно предположить, что установленный эффект является результатом запуска альтернативных путей сигнальной трансдукции в ответ на элиситацию клеток исследуемой суспензионной культуры компонентами ДЭ и молекулами МеЖ, который приводит к повышению биосинтеза таких фитоалексинов как фенолоксилов.

#### **Список использованной литературы**

1. Elicitation, an Effective Strategy for the Biotechnological Production of Bioactive High-Added Value Compounds in Plant Cell Factories / K. Ramirez-Estrada [et al.] // *Molecules*, 2016. – Vol. 21. – P. 182-206.
2. Patel, H. Elicitors in Plant Tissue Culture / H. Patel, R. Krishnamurthy // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2013. – Vol. 2 (2). – P. 60-65.
3. Naik, P.M. Abiotic and biotic elicitors – role in secondary metabolites production through in vitro culture of medicinal plants / P.M. Naik, J.M. Al-Khayri; ed.: A.K. Shanker, C. Shanker. *Abiotic and Biotic Stress in Plants Recent Advances and Future Perspectives*. IntechOpen, 2016. – P. 247–277.
4. Характеристика суспензионной культуры как объекта для промышленного производства фармакологически активных веществ / В.М. Юрин [и др.] // *Труды Белорусского государственного университета. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем»*, 2016. № 11. – С. 9–31.

*Кожгаельдиева Л.Д.*

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОПОВ КАК ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ**

Сироп – это лекарственная форма, которая представляет собой соединение экстрактов сахарного сиропа и лекарственных растений, что позволяет полностью усваиваться в организме активным целебным веществам, содержащимся в лекарственных травах и ягодах. Из-за насыщенного аромата и вкуса, сиропы с экстрактами целебных ягод используют при изготовлении полезных напитков, применяя их для удовлетворения жажды, оздоровления организма. Также, сиропы можно

использовать не только как лекарственную форму, но и как полезную добавку к кисломолочным продуктам, кашам, десертам.

Основное предназначение сиропов в линейке лекарственных средств для детей – исправление неприятного вкуса, который имеют многие лекарственные вещества. Этого можно достичь, у при помощи сахарного, инвертного, сахаро-паточного, сахароинвертного, сахаро-инвертно-паточного сиропов.

Инвертный сироп получают, используя в качестве сырья сахарный сироп, инвертируя сахарозу. Это достигается путем добавления катализатора, кислоты, в сахарный сироп с последующим нагреванием. Если необходимо кислоту нейтрализуют. Инвертный сироп может представлять собой смесь глюкозы и фруктозы в равном количестве. Сахаро-паточный сироп делают их сахарозы и патоки.

Сиропы применяются много лет благодаря многим положительным качествам формы. Они удобны в применении. Лекарственные вещества в них точно дозированы. Для удобства применения в упаковки входят мерные ложечки. Сиропы можно назначать больным сахарным диабетом как сахарозаменители. Они маскируют неприятный вкус и запах лекарственных веществ, которые входят в состав сиропа.

У сиропов есть некоторые недостатки. Например, их нельзя применять при рвоте и обморочном состоянии. Другой недостаток связан с тем, что у лекарственных веществ, входящих в сиропы, биодоступность ниже, чем у инъекционных растворов, так как препараты проходят через желудочно-кишечный тракт.

Для того чтобы правильно определить технологию лекарственных сиропов, необходимо учитывать их классификацию.

Сиропы относятся к жидким лекарственным формам.

В зависимости от того, что входит в их состав, различают вкусовые и лекарственные сиропы.

Вкусовые сиропы предназначены для того, чтобы корректировать основные действующие вещества, входящие в лекарственные препараты. С этой целью распространено использование сахарного, вишневого, малинового, мандаринового и других фруктово-ягодных сиропов.

Лекарственные сиропы по природе являются лекарственными веществами, способными оказывать терапевтический эффект. Это сироп парацетомола, шиповника «Доктор Мом», «Феррум Лек», бромгексин, сиропы на основе алтея лекарственного, солодки, калины, крушины.

Из-за особенностей внешнего вида различают прозрачные и непрозрачные сиропы.

Учитывается также используемое сырье. Различают чистые сиропы, сиропы с соком, сиропы на растительном сырье, сиропы специального назначения и сиропы, включающие ароматизаторы.

Исходя из способов изготовления различают несколько видов. Кроме пастеризованных бывают непастеризованные сиропы, в которые добавляют

консерванты. Производят также сиропы путем; асептического розлива, холодного розлива и горячего розлива.

Благодаря разнообразию форм, лекарственные сиропы используют для лечения аллергии, заболеваний ЖКТ, простудных заболеваний и самое главное лечения заболеваний верхних дыхательных путей.

### **Список использованной литературы**

1. Муравьев И. А. Технология лекарственных форм / И. А. Муравьев. – Медицина: Москва, 1988. – 480 с.
2. Гаврилов А.С. Фармацевтическая технология. Изготовление лекарственных препаратов / А. С. Гаврилов. – ГЭОТАР-Медиа. – Москва, 2010. – 624 с.
3. Молчанов Г. Фармацевтические технологии / Г. Молчанов. – М.: Инфра-М, 2009.
4. Муравьев И.А. Технология лекарств в 2-х т. / И.А. Муравьев. – М.: Медицина. 1980 т. – 704 с.
5. Максименкова К.И. Технология вкусовых и лекарственных сиропов: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов и факультетов и провизоров-интернов / К.И. Максименкова, С.О. Лосенкова, С.К. Кириллов. – Смоленск: СГМА, 2012. – 32 с.

*Кожгаельдиева Л.Д.*

### **ЛЕЧЕБНАЯ КОСМЕТИКА И ЕЕ РОЛЬ В ЖИЗНИ ЧЕЛОВЕКА**

Внешний вид человека играет немаловажную роль в его жизни, при этом о многом говорит состояние кожи. Благоприятный человек имеет ухоженную и здоровую кожу - результат тщательного косметического ухода, здорового образа жизни и рационального питания. Но случается так, что, вопреки всем усилиям, кожа имеет неважный вид, и в таких случаях приходит на помощь специальная косметика, называемая лечебной, которая существовала с древних времен и до сих пор не теряет своей актуальности.

Данная косметика является промежуточным звеном между лекарственными средствами и обычной косметикой. Лечебная косметика имеет такие же формы выпуска, как и обычная: это эмульсии, кремы, бальзамы, масла, гели, лосьоны, шампуни, зубные эликсиры, помады, и т.д. Отличие лечебной косметики в том, что она продается в аптеках и содержит лекарственные средства.

Косметологи обычно используют для ухода за нежной кожей вокруг глаз, для ухода за проблемной кожей (чувствительной, сухой, с угревой сыпью, стареющей и т.д.), при различных дерматитах (в сочетании с другими лекарственными препаратами), для восстановления кожи после глубокой очистки или пластических операций.

Современные косметические средства не являются лекарствами. Их полем деятельности является эпидермис. Такие средства не должны

проникать в живые слои кожи. Из этого следует, что косметические средства существенно не влияют на состояние кожи и не способны полностью улучшить ее характеристики. Ключевым критерием качества косметики является бактериальная частота. Стало быть, косметика не должна способствовать инфицированию кожи различными микроорганизмами. С космецевтикой все иначе. Если требуется большой промежуток времени для тестирования препаратов, значит, в ее составе находятся лекарственные средства. Для этого требуются большие денежные затраты как в плане исследований, так и в плане тестирования ее действия. Исходя из этого, главная задача космецевтики в том, чтобы уладить законодательный вопрос, который касается космецевтических средств. В данный период времени, космецевтика не выносится законодательством в отдельную категорию. Несмотря на это, активно ведется продажа так называемой «лечебной косметики», которая часто идентифицируется с космецевтикой.

Следует отметить, что, в данной косметике есть массы достоинств, но все же при длительном и неправильном применении она может вызвать аллергические реакции, поскольку в ней содержатся активные вещества в очень высокой концентрации. Поэтому не стоит часто использовать такие средства. Лечебная косметика обычно применяется курсами, после которых рекомендуется применять наиболее легкие средства для ухода за кожей.

Лечебная косметика имеет свои показания и противопоказания, как и любое лечебное средство. Во-первых, помогает справляться со многими кожными проблемами и защищает кожу от вредных воздействий окружающей среды. Во-вторых, сохраняет водно-минеральный баланс кожи, в результате чего ее поверхность покрывается тонкой защитной пленкой. Срок хранения лечебной косметики снижается, так как в ней содержится минимальное количество отдушек и консервантов.

В отличие от обычных лекарств, лечебную косметику можно применять и здоровым людям, так как кроме лечебных свойств у нее есть также хорошие декоративные и косметологические свойства. Нужно отметить, что категорически запрещено одновременно применять средства из группы космецевтики, которые имеют разное значение.

При помощи некоторых свойств данная косметика применяется в виде лечебных курсов, только не непрерывно. При серьезных заболеваниях она используется в сочетании с другими лекарственными препаратами. В виде дерматологических линий лечебную косметику выпускают некоторые фирмы. Это достаточно удобно, так как можно снижать дозировку применяемых препаратов.

### **Список использованной литературы**

1. Муравьев И. А. Технология лекарственных форм / И. А. Муравьев. – Медицина: Москва, 1988. – 480 с.
2. Картамышев А.И., Арнольд В.А. Косметический уход за кожей. – Киев, 1964. – 192 с.

3. Марголина А.А., Эрнандес Е.И. Новая косметология. Косметические средства: ингредиенты, рецептуры, применение. – М.: ООО ИД "Косметика и медицина", 2015. – 580 с.
4. Миринова Л.Г. Медицинская косметология. – Москва, Крон – пресс, 2000. – 250 с.
5. Слетов Н.В. Курс врачебной косметики. – Москва, 1909. – 106 с.
6. Дрелос З. Д. Космецевтика. – Нидерланды, 2010. – 264 с.
7. Гаврилов А.С. Фармацевтическая технология. Изготовление лекарственных препаратов / А. С. Гаврилов. – ГЭОТАР-Медиа. – Москва, 2010. – 624 с.

*Креницкий Д.Р., Толкач О.Я.*

### **КРАТКИЙ МОНИТОРИНГ БЕЗОПАСНОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА БЕЛАРУСИ И РОССИИ**

Лекарственные средства и препараты составляют неотъемлемую часть современного общества. Ежедневно во всем мире продаются и покупаются миллиарды лекарственных средств. Однако большинство людей не до конца понимают, что на самом деле они покупают, думая, что каждое лекарственное средство эффективно и безопасно. Однако, проведенное нами исследование показывает, что это далеко не так.

Цель и задачи. Дать оценку и на примерах продемонстрировать наличие неэффективных, с недоказанной эффективностью или опасных ЛС (лекарственных средств), которые продаются на фармацевтическом рынке, как Беларуси, так и России.

С использованием данных компании MedMarket было отобрано 100 самых продаваемых в Республике Беларусь лекарств за август и октябрь 2020 года. В общей сумме оказалось 122 лекарственных средства, 118 из которых так же продаются в РФ. Затем каждое проверялось на наличие в MedLine (крупнейшая библиографическая база статей по медицинским наукам, созданная Национальной медицинской библиотекой США). Лекарства, которые не были найдены на этом портале, подлежали более тщательному поиску в таких базах данных медицинских и биологических публикаций, как PubMed и Cocharane Library. Так же внимание уделялось и отпуску лекарств (по рецептам и безрецептурный). Соотношение рецептурных и безрецептурных лекарств составило 1:5,6.

Данные, полученные нами за август и октябрь 2020 г. показывают, что вне зависимости от эпидемиологической ситуации в стране, 4,5-5% наименований лекарств, которые покупались гражданами РБ, являются неэффективными, с недоказанной эффективностью, либо опасными для применения.

В общем итоге из 122 лекарственных средств было найдено 9 наименований, продающихся как в РБ, так и РФ (или их аналоги с тем же действующим веществом), которые являются неэффективными, с

недоказанной эффективностью, либо опасными для применения. Среди них: безрецептурные (Назолин, Нафтизин, Назорин, Нимесулид, Найз, Метопролол, Флуостоп, Тамифлю) и препарат, продаваемый по рецепту Гликлазид.

Нафазолин (и его гомологи нафтизин и назорин), которые занимают 13, 62 и 67 место среди самых продаваемых лекарств в РБ за август 2020 (в общей сумме 249 781 упаковок). Нафазолин – это препарат, используемый в качестве противоотечного средства, как правило, у взрослых пациентов. Однако по данным, найденным нами [1], можно заметить, что часто применяют нафазолин и дети, в том числе и дети возрастом до 1 года, применение которыми противопоказано по инструкции. Использование нафазолина и гомологов для детей часто вызывает отравление, что приводит к угнетению ЦНС и серьезным осложнениям (вплоть до комы).

Нимесулид и его гомолог найз, занимающие 26 и 79 места среди самых продаваемых лекарств в РБ за август 2020 года (в общей сумме 133 917 упаковок).

Нимесулид – это нестероидный противовоспалительный препарат (НПВП), который не является более эффективным и лучше переносимым, чем другие НПВП, но вызывает серьезные отрицательные последствия. Так итальянское ретроспективное исследование [2], проведенное между 1997 и 2001 годами, с участием около 400 000 пациентов, принимавших НПВП, показало, что риск тяжелого поражения печени при приеме нимесулида был в два раза выше, чем при применении других НПВП. Европейская база данных фармаконадзора показывает, что при приеме нимесулида наблюдается наибольшее количество случаев тяжелого поражения печени, чем при использовании других НПВП [3, 4].

Метопролол, занимающий 51 место среди самых продаваемых лекарств в РБ за август 2020 года (57 701 упаковка).

Метопролол – кардиоселективный бета-(1)-адреноблокатор без внутренней симпатомиметической активности. Метопролол применяется в периоперационный период внесердечных операций. Однако исследовательская группа POISE в мае 2008 года провела испытания  $\beta$ -адреноблокаторов у пациентов, перенесших внесердечные хирургические вмешательства, сравнивая метопролол с плацебо. Было установлено, что инфаркт миокарда случался меньше у пациентов в группе метопролола, чем в группе плацебо [5]. Но с другой стороны в группе пациентов, принимающих метопролол, было больше смертей, чем в группе плацебо; больше пациентов в группе метопролола, чем в группе плацебо, имели инсульт [6]. Эти результаты подчеркивают риск, связанный с применением метопролола и показывают, что для дальнейшего использования этого адреноблокатора в периоперационный период требуются дополнительные научные исследования и клинические испытания.

Флуостоп или его аналог Тамифлю, занимающий 89 место среди самых продаваемых лекарств за октябрь 2020 года (39 286 упаковок). Флуостоп –

противовирусный препарат (действующее вещество осельтамивир). Многие исследования, проведенные с использованием осельтамивира, в некоторых случаях во время эпидемий (свиного, птичьего гриппа), не смогли доказать эффективность данного препарата [7].

Гликлазид, занимающий 64 место среди самых продаваемых лекарств в РБ за август 2020 года (39 322 упаковки).

Гликлазид, пероральный препарат сульфонилмочевины второго поколения, оказывает сильное гипогликемическое действие. Поэтому его назначают для лечения сахарного диабета 2 типа (СД2). Ученые Медицинского Университета г. Лодзь показали, что антиоксидантный эффект гликлазида защищает от апоптоза не только нормальные клетки, но также делает устойчивыми к апоптозу и раковые клетки. Кроме этого гликлазид, как сообщается, активирует репарацию ДНК в раковых клетках, а не в нормальных клетках человека [8]. Таким образом, использование гликлазида может быть сопряжено с большой опасностью для здоровья человека, который лечась от диабета, стимулирует существование метаболически активных раковых клеток.

Из более чем ста ЛС, продаваемых в аптеках Республики Беларусь и Российской Федерации, 8 препаратов (что составляет 6,6 % от 122) оказались либо опасными для применения, либо неэффективными. Причинами покупок таких лекарств являются их свободная продажа (80% из общего числа неэффективных и опасных лекарств на данный момент подлежат безрецептурному отпуску) и самолечение, к которому так часто прибегают граждане РБ и РФ. Большое влияние на бесконтрольные закупки и самостоятельное назначение себе ЛС оказывает и широкая реклама фармацевтических препаратов, которую, на наш взгляд, следует запретить. Основываясь на этих данных, можно сделать вывод, что и российский, и белорусский рынки фармацевтических препаратов требуют тщательного мониторинга безопасности ЛС, не достаточно контролируются сертификационными органами, а некоторые лекарства, лежащие на полках аптек, должны пройти дополнительные исследования. Для эффективной работы в этом направлении, на наш взгляд, необходимо наладить более тщательный процесс регистрации ЛС с учетом всех современных исследований и данных PubMed и Cocharane Library.

#### **Список использованной литературы**

1. <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2018/v116n4a31.pdf>
2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21648177/>
3. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21030939/>
4. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30677025/>
5. <https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736%2808%960601-7>
6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19033265/>
7. <https://indicator.ru/medicine/tamiflyu.htm>
8. <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/2211-5463.12583>

## АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА И СОСТАВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ ТЕРРИТОРИЯХ

Известно, что эфирные масла хвойных пород деревьев обладают рядом ценных свойств и антимикробным действием, они широко применяются в фармацевтической и косметической промышленности. Первыми по значимости хвойными породами в видовом составе лесов Республики Беларусь являются сосна обыкновенная (*Pinus silvestris L.*) и ель европейская (*Picea abies L. Karst.*). Одним из направлений переработки биомассы таких насаждения является получение широкого спектра экстрактивных веществ и в частности эфирного масла.

Целью настоящей работы является анализ состава эфирных масел сосны обыкновенной и ели европейской, произрастающих на экологически чистых территориях Республики Беларусь, и их антимикробные свойства.

В Республике Беларусь выделено 6 административных регионов, почвенно-климатические условия которых неодинаковы, в соответствии с чем и был проведен анализ влияния региона произрастания на выход и компонентный состав эфирного масла ели европейской (*P. abies L. Karst.*) и сосны обыкновенной (*Pinus silvestris L.*) [1].

Образцы древесной зелени отбирались в национальных парках Республики Беларусь – Березенский биосферный заповедник Минская и Витебская область, ГПУ НП «Браславские озера» Витебская область, ГПУ «Национальный парк «Нарочанский» Минской области, Ландшафтный заказник Налибокский, ГПУ «Национальный парк «Беловежская пуца» Гродненская область с деревьев 50-60 летнего возраста в декабре месяце.

Хорошо известно, что антропогенные факторы весьма существенно влияют на состав и свойства эфирных масел [2]. Поэтому для отбора образцов древесной зелени были выбраны территории с минимальным техногенным воздействием. Измеренные значения мощности дозы гамма излучения составляли 0,10 мкЗв/час (10 мкР/час), что является фоновым значением для Республики Беларусь. Уровень загрязненности территории оценивали по содержанию в хвое токсичных элементов Pb, Cd, Cu, Co, Ni, Mn, Cr, S методами нефелометрии и атомно-абсорбционного анализа. В целом, содержание этих элементов в различных экологически чистых регионах были схожи и не превышали допустимых значений: Pb –  $0,0034 \pm 0,0006$  мг/ 100 г, Cu –  $0,258 \pm 0,033$  мг/ 100 г, Mn –  $8,476 \pm 1,006$  мг/ 100 г, Ni –  $0,281 \pm 0,018$  мг/ 100 г, Zn –  $3,5 \pm 0,5$  мг/ 100 г, S –  $91,6 \pm 2,2$  мг/ 100 г. Кроме того, отсутствие в местах отбора проб больших промышленных объектов и транспортных магистралей приводит к весьма низкому содержанию токсичных элементов в хвое.

Из отобранных образцов хвои составляли сборную пробу от 10-15 деревьев, с которой и проводили дальнейшие эксперименты. Процесс выделения эфирного масла проводили не позднее, чем через 4-6 часов после отбора. Отобранную хвою отделяли от стволиков, измельчали до размера 3-5 мм, составляли навеску от 200 до 250 г и из нее методом гидродистилляции отгоняли эфирное масло в течение 4-х часов. Выход эфирного масла рассчитывался на абсолютно сухое сырье. Также определялась плотность и показатель преломления, как основные характеристики при входном контроле сырья. Выход эфирного масла из елей и сосен не высокий и составлял 0,20-0,24% или около 0,4% на а.с.м. при влажности хвои  $60 \pm 1\%$ . Величина показателя преломления ( $n_d^{20}$ ) составляла  $1,4745 \pm 0,0002$  и  $1,4951 \pm 0,0003$  соответственно.

Качественный и количественный анализ проводили на хроматографе Кристалл 5000.1 с использованием кварцевой капиллярной колонки длиной 60 м с нанесенной фазой 100% диметилсилоксаном. Запись спектров ЯМР проводили на спектрометре AVANCE-500 (Германия) с рабочими частотами для ядер  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  – 500 МГц и 125 МГц, соответственно.

Методами ГЖХ и ЯМР спектроскопии было идентифицировано и количественно измерено порядка 28 компонентов в эфирном масле сосны обыкновенной, суммарное содержание которых составило 77,4–77,9 % от общего содержания компонентов. Основными компонентами (содержание более 1%) являются: 3-карен –  $25,2 \pm 0,5$ , камфен –  $1,96 \pm 0,14$ , лимонен –  $2,2 \pm 0,5$ , мирцен –  $1,66 \pm 0,07$ , терпинолен –  $2,52 \pm 0,06$ ,  $\alpha$ -пинен –  $17,7 \pm 0,6$ ,  $\beta$ -пинен –  $4,3 \pm 0,7$ , кариофиллен –  $8,68 \pm 0,26$ , на их долю приходится более половины от общего содержания компонентов эфирного масла.

Качественный анализ эфирного масла ели европейской показал наличие порядка 65 соединений. Основными компонентами с содержанием более 1% являются:  $\alpha$ -пинен –  $8,5 \pm 0,5$ ; камфен –  $15,7 \pm 0,5$ ;  $\beta$ -пинен –  $1,6 \pm 0,3$ ; мирцен –  $4,3 \pm 0,6$ ; лимонен –  $16,1 \pm 0,6$ ; 1,8-цинеол –  $9,3 \pm 0,7$ ; камфора –  $2,1 \pm 0,3$ ; борнеол –  $3,7 \pm 0,6$ ;  $\alpha$ -терпинеол –  $2,5 \pm 0,3$ ; борнилацетат –  $19,2 \pm 1,3$ .

Антибактериальную активность эфирных масел определяли диффузионным методом (метод бумажных дисков). Принцип метода основан на диффузии антимикробных агентов в агар и определении диаметра зон ингибирования роста тест-культур бактерий на агаризованной среде, формирующихся под действием диффундирующих в среде веществ, обладающих антимикробной активностью [3]. Определение антибактериальной активности эфирных масел проводили с использованием 6 санитарно-показательных микроорганизмов. Определение антибактериальной активности эфирных масел проводили с использованием санитарно-показательных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella enterica* 0890, *Bacillus subtilis* 168; *Clostridium* sp., *Escherichia coli* Hfr H, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Результаты определения диаметра

зон ингибирования роста тест-культур бактерий растворами эфирных масел приведены в таблице.

Таблица

Результаты определения диаметра зон ингибирования роста тест-культур бактерий растворами эфирных масел (10 % и 50 % раствор эфирного масла в этаноле)

Хвойные растения	Процентное содержание спирта	Диаметр зоны ингибирования роста (мм) тест-культур бактерий					
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Clostridium sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Сосна обыкновенная ( <i>Pinus sylvestris L.</i> )	10 %	15	15	13	16	14	14
	50 %	19	19	17	20	19	18
Ель европейская ( <i>Picea abies (L) Karst</i> )	10 %	17	18	20	23	19	22
	50 %	21	22	24	27	24	26

Таким образом проведенные исследования показали, что состав и антибактериальные свойства эфирных масел сосны обыкновенной и ели европейской выделенных из растений, произрастающих на территориях с одинаковой техногенной нагрузкой и идентичных географических и климатических условиях, в рамках статистической обработки результатов практически не изменяются.

#### Список использованной литературы

1. Сарнацкий, В. В. Ельники: формирование, повышение продуктивности и устойчивости в условиях Беларуси / В. В. Сарнацкий. – Минск: Тэхналогія, 2009. – 334 с.
2. Есякова, О. А. Влияние загрязненности воздушной среды Красноярска на терпеноидный состав эфирного масла ели сибирской / О. А. Есякова, Р. А. Степень // Химия растительного сырья, 2010. – № 4. – С. 139–143.
3. Jirovetz, L. Analysis of the essential oil volatiles of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) from Bulgaria / L. Jirovetz [et al.] // J. Serb. Chem. Soc., 2000. – № 15. – P. 434–437.

Левченко В.М., Заерко В.И., Шуляк А.Ф.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТУР КЛЕТОК К ВИРУСУ КОНТАГИОЗНОГО ПУСТУЛЕЗНОГО ДЕРМАТИТА ОВЕЦ И КОЗ

Успехи в культивировании клеток живых организмов *in vitro*, использование их в вирусологии и биотехнологии, производстве вакцин и диагностических препаратов являются необходимым условием обеспечения биобезопасности для людей и животных. Усилиями специалистов созданы коллекции, имеющие мировое значение как важнейший источник культур клеток различного происхождения [2].

Тенденция развития производства современных иммунобиологических препаратов с высокой конкурентоспособностью выдвигает задачу разработки технологий получения культур клеток на основе стандартных и, по возможности, полностью идентифицированных питательных сред.

Технология клеточных культур – неотъемлемая часть производства противовирусных вакцин. С этой целью применяют как первичные, так и постоянные культуры [3]. Использование первичных культур клеток сопровождается определенными трудностями, связанными с подбором соответствующих животных-доноров, а также с этическими ограничениями. Коллекционные клеточные культуры, являясь биологическим объектом, в процессе хранения, поддержания, культивирования подвержены изменениям, в том числе, чувствительности, а также риску контаминации. В связи с этим, получение новых клеточных штаммов и линий, изучение их характеристик, особенностей репродукции в них вирусов неизменно остается актуальной задачей биологических наук [1].

Контагиозный пустулезный дерматит (контагиозная эктима, КПД) овец и коз – инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением слизистых оболочек ротовой полости, кожи губ, головы, гениталий, молочных желез и конечностей, сопровождающаяся образованием узелков, везикул, пустул и корок с преимущественным поражением одного какого-либо участка тела. Возбудитель КПД – эпителиотропный ДНК-содержащий вирус, относящийся к роду *Parapoxvirus* семейства *Poxviridae*. Он распространен во всех странах с развитым овцеводством и козоводством, однако эта болезнь не является обязательной к оповещению, поэтому сведения о ее распространении не дают исчерпывающей картины. В РФ она встречается в Тыве, Бурятии, Забайкалье и часто в Дагестане.

Уровень заболеваемости в пораженных инфекцией овечьих отарах составляет около 100 %, смертность достигает 10 %, а при осложнении секундарной микрофлорой – 20 % и более. В течение последних лет наблюдают тенденцию увеличения степени распространения КПД среди овец и коз, а также поражения болезнью новых видов животных, что свидетельствует о разнообразии взаимодействия патогена с хозяином. В последнее время вирус КПД становится объектом повышенного внимания

как возбудитель, вызывающий заболевание не только у овец и коз, но и у человека [5].

Для репродукции КПД *in vitro* используют ограниченный спектр культур клеток. Иммунизация успешно предупреждает развитие оспенных инфекций, а эффективность вакцин в значительной мере зависит от выбора культур клеток для размножения производственных штаммов. Поэтому данные культуры клеток должны соответствовать ряду требований: обладать чувствительностью, стабильностью свойств, хорошими ростовыми качествами, размножаться на доступных питательных средах, поддерживать на высоком уровне полноценную репродукцию иммуногенного вируса; не иметь онкогенных и аллергических свойств; в них должны отсутствовать посторонние вирусы и микробы. Поиск культур клеток, перспективных для производства вакцин против распространенных оспенных инфекций животных, представляет собой важную научную задачу [4].

В настоящей работе представлены результаты изучения репродукции вакцинного штамма вируса контагиозного пустулезного дерматита овец и коз (*Dermatitis pustulosa contagiosa ovium*) в клеточных линиях ЛПК (легкое плода коровы) и гибридной линии А4L.

Для заражения культур клеток использовали вакцинный штамм вируса контагиозного пустулезного стоматита и оспы овец. Первые пассажи проводили без учета множественности заражения, а впоследствии инфицирующая доза составляла  $0,1 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ . Зараженные и интактные культуры инкубировали при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , систематически микроскопировали и регистрировали морфологические изменения клеток. Для определения урожая вируса отбирали пробы культуральной жидкости и титровали в культуре клеток на 96-луночных планшетах общепринятым способом.

Вирус контагиозного пустулезного дерматита овец и коз в культуре ЛПК размножался с характерным ЦПД – гипертрофия и округление клеток по всему клеточному газону через 24 ч после заражения. В дальнейшем их количество нарастало, образовывались небольшие симпласты. В цитоплазме наблюдали включения и вакуоли. Нарушалась целостность монослоя. ЦПД прогрессировало до полной деструкции монослоя спустя 72 ч после инфицирования. Средний титр вируса составлял  $10^6 \text{ ТЦД}_{50}/0,1 \text{ см}^3$ . Геном возбудителя выявляли в разведениях от  $10^{-1}$  до  $10^{-6} \text{ ТЦД}_{50}/0,1 \text{ см}^3$  в 1–5 пассажах (период наблюдения).

Культура клеток А4L представлена эпителиоподобными (до 40 %) и лимфоцитоподобными клетками (60 %). Первые из них полигональной формы, различных размеров, с крупным ядром, содержащим 1–3 ядрышка. Иногда встречаются клетки с двумя ядрами. Характерная особенность культуры – присутствие в культуральной среде во взвешенном состоянии жизнеспособных клеточных агрегатов.

При первичном заражении вирусом контагиозного пустулезного стоматита овец и коз через 48 ч происходило массовое округление клеток, через 96 – 120 ч – отслоение их от поверхности флакона. На уровне 3-го

пассажа наблюдали обратимость клеточных поражений, и на более высоком пассажном уровне вирус не удавалось выявить. Средний урожай этих возбудителей не превышал  $10^1$  ТЦД<sub>50</sub>/0,1 см<sup>3</sup>.

По результатам проведенных опытов установлено, что культура клеток ЛПК может быть использована в производстве вакцины против контагиозного пустулезного дерматита овец и коз, в то время как культура А4L была не способна поддерживать репликацию при пассировании включенного в эксперимент вируса.

### Список использованной литературы

1. Культивирование клеток: Курс лекций / О. В. Блажевич. – Мн.: БГУ, 2004. – 78 с.
2. Дьяконов Л.П. К проблеме функционирования коллекций, криобанков клеточных культур. Материалы Международной конференции «Сохранение генетических ресурсов». Цитология, 2004. – 46(9):790, 791.
3. Сравнительная оценка чувствительности новых культур клеток к поксивирусам животных / В. И. Заерко, О.А. Гевлич, И.О. Фоминова, А.Ф. Шуляк, Т. В. Гальнбек, Г.Н. Величко // Ветеринария, 2018. – №10. – С. 27-33.
4. Дьяконов Л.П. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии) / Дьяконов Л.П., и др. – М.: Изд. «Спутник», 2009. – 654 с.
5. Гальнбек Т.В. Чувствительность нового штамма клеток ЛПК к вирусам крупного рогатого скота / Гальнбек Т.В. и др. // Ветеринария, 2014. – 10:55 – 60.

*Лосева А.М.*

### ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАКЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ *CICHORIUM INTYBUS L* И ИЗУЧЕНИЕ ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

В настоящее время, на российском фармацевтическом рынке наибольшей популярностью для лечения бактериальных поражений кожи обладают синтетические препараты. Основными отрицательными эффектами таких лекарственных средств являются привыкание и побочные эффекты. В отличие от препаратов химического синтеза терапевтический эффект фитопрепаратов заключается не только в действии основного действующего вещества, но и влиянием всего комплекса биологически активных веществ, содержащихся в растении. Основными преимуществами растительных препаратов являются хорошая переносимость, широкий спектр действия, меньшее количество побочных эффектов, возможностью сочетания с различными химиотерапевтическими препаратами. Все перечисленные преимущества фитопрепаратов делают возможным их использование для разных возрастных групп населения. В связи с этим актуальна разработка

препаратов растительного происхождения с последующим массовым выпуском на фармацевтических предприятиях.

Цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus L.*), многолетнее травянистое растение высотой от 30 до 120 см. Распространено повсеместно в средней и южной полосе России, в Западной Сибири, на Алтае и в Украине. Чаще всего произрастает на лугах, по краям дорог, а часть его культивируется в качестве корнеплода, для изготовления суррогата кофе в таких странах как: США и Индонезия. В *Cichorium intybus L.*, во всех частях растения содержится большое количество биологически активных веществ в виде макро- и микроэлементов, белковых и дубильных веществ, органических и неорганических кислот [1]. Содержание витаминов и минеральных веществ (в мг%): витамин С – 10,2, витамин В2 – 0,003, каротина – 1,3, витамин, РР – 0,24, В1 – 0,05, кальция – 26, марганца – 12, натрия – 4,4, калия – 1,92, железа – 0,7, фосфора – 25 [2,3].

Научные данные подтверждают иммунопротективное, противовоспалительное и антибактериальное действие Цикория обыкновенного, благодаря наличию в химическом составе кверцетина, кемпферола и цикориевой кислоты [4].

Целью научной работы являлось получение мягких лекарственных форм на основе сухого экстракта *Cichorium intybus L.*, и изучение антибактериальное действие.

Для изготовления сухого экстракта измельчали траву Цикория обыкновенного в ступке. Экстрагирование биологически активных веществ из лекарственного сырья проводили в экстракционном сосуде с применением в качестве экстрагента спирта 70%. Настаивали в течение 21 дня в темноте при 20-25 °С, после чего фильтровали. Для удаления экстрагента и концентрации действующих веществ была применена сублимационная сушка. Высушенный гомогенат был подвергнут измельчению в фарфоровой ступке пестиком до порошкообразного состояния. Из полученного порошка Цикория обыкновенного были изготовлены антибактериальные мазь и гель.

Исследование антибактериального действия изготовленных опытных образцов мази и геля проводилось методом бумажных дисков с использованием тестового микроорганизма. Чистая культура *Escherichia coli* была приготовлена из дисков BD Microtrol путём растворения диска в заранее стерилизованной пробирке в жидкой питательной среде. Для определения антибактериальных свойств экспериментальных препаратов проводили посев чистой культуры «газоном».

Оценка антибактериальной активности разработанных мягких лекарственных форм проводилась на чашках Петри с предварительно засеянной культурой кишечной палочки. Стерильные диски наносились на поверхность чашек Петри, засеянных *Escherichia coli*. Предварительно, диски были обработаны приготовленными исследуемыми препаратами. Каждый день, в течение 14 дней, однократно проводился контроль биологической активности на *Escherichia coli*. Для учета результатов определяли диаметр

зоны задержки роста бактерии вокруг дисков, пользуясь микрометром. Зоны, диаметр которых не превышает 15 мм, свидетельствовал о слабой чувствительности к препарату. Зоны от 15 до 25 мм встречаются у чувствительных микроорганизмов. Высокочувствительные штаммы характеризуются зонами с диаметром более 25 мм.

В качестве препарата для сравнения антибактериальной активности была использована «Тетрациклиновая мазь». В результате исследований были сделаны выводы, что наиболее выраженным антибактериальным действием обладает лекарственный препарат «Тетрациклиновая мазь». Но этот препарат является официально разрешенным антибактериальным средством и имеет синтетическую природу (тетрациклин гидрохлорид). Мазь и гель на основе сухого экстракта *Cichorium intybus L.*, в сравнении с Тетрациклиновой мазью проявили более слабый антибактериальный эффект, но это говорит о достаточно высоком потенциале исследуемого растительного сырья.

#### **Список использованной литературы**

1. Сайбель О.Л. Изучение фенольных соединений травы цикория обыкновенного (*Cichorium intybus L.*) / О.Л. Сайбель // Химический журнал, 2016. – № 1. – С. 53-58.
2. Atta A.H., Elkoly T.A., Mounair S.M., Kamel G., Alwabel N.A., Zaher S. Hepatoprotective Effect of Methanol Extracts of *Zingiber officinale* and *Cichorium intybus* - Indian. J. Pharm. Sci, 2010, Sep., 72(5), 564-570.
3. Сайбель О.Л. Фармакогностическое изучение травы Цикория обыкновенного (*Cichorium intybus L.*) /О.Л. Сайбель., Т.Д. Даргаева., О.Г.Потанина // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств, 2015. – №5 (10). – С. 30-36
4. Роговский В.С. Антигипертензивная и нейропротекторная активность кверцетина и его производных/ В.С. Роговский, Н.Л.Шимановский, А.И.Матюшин // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2012. – Т.75. – №9. – С.37-41.

*Мартиашвили Д.Р., Чурилова Т.М.*

#### **МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ КАЛЛУСНЫХ И СУСПЕНЗИОННЫХ КУЛЬТУР**

Под лекарственными препаратами понимают вещества, которые применяют для лечения болезни, ее диагностики, профилактики, полученные с применением биологических технологий или методами синтеза из крови, плазмы крови, из тканей, органов животного, человека, микроорганизмов, растений, минералов.

Совершенствование технологий фармакологии приводит к непрерывному поиску, соответственно и созданию новых лекарственных препаратов, наиболее безопасных и активных. Особое значение в последние

годы при получении новых лекарственных средств придается фундаментальным исследованиям. С самых давних времен в медицине применяют растения, люди тех времен не имели иных способов борьбы с болезнями. В начале XX века растения составляли более 80% используемых лекарственных средств. Развитие фармакологии за несколько десятилетий привело к преобладанию на рынке биофармацевтики антибиотиков, синтетических и гормональных препаратов. Упавшая популярность растительных препаратов стала повышаться как необходимость из-за массовых осложнений после приема синтетических препаратов, появления феномена антибиотикорезистентности.

В лекарственных растениях содержатся биологически активные вещества, способные влиять на метаболические процессы в организме животных и человека. У многих биологически активных веществ структура сложна до такой степени, что только растения являются их единственным источником. В настоящее время исключительно растения служат сырьем для производства около 20 000 веществ, на основе которых изготавливают фитопрепараты. Такие препараты малотоксичны, оказывают более длительное фармацевтическое действие, практически не вызывая аллергических реакций. Поэтому препараты такой природы можно применять длительное время, что особо важно для детей и пожилых людей.

Согласно нормативной документации ежегодно для медицинских целей в России используют более 260 видов лекарственных растений, из которых заготавливают десятки тысяч тонн растительного сырья. Больше половины собранного растительного сырья поступает для производства лекарственных средств на предприятия химико-фармацевтической промышленности, и только треть разрешена для реализации в аптеках. Естественные ресурсы лекарственных растений ограничены, со временем почва истощается, растительное сырье желательно собирать только в экологически чистых местах. Многие растения при этом являются исчезающими и редкими, могут расти только в определенных климатических условиях. По этой причине идет активный поиск альтернативных источников получения биологически активных веществ растительного происхождения.

Культуры клеток растений являются одним из таких источников. Каллус – ткань, которая возникает посредством размножения клеток делением (неорганизованной пролиферации) потерявших специализацию (дифференцированных) клеток органов растений.

Каллусная ткань в природе образуется при травмах растений. Такая ткань защищает место ранения, накапливает питательные вещества для регенерации. Функционирует каллусная ткань непродолжительное время. Также каллус образовываться может «в пробирке». Каллусная ткань при этом сначала представляет собой нечто аморфное желтоватого или белого цвета. При верном подборе компонентов питательной среды из каллуса можно добиться регенерации целого растения.

При сборе растительного сырья с целью получения определенной группы биологически активных веществ, используется не всё растение, а та его часть, которая содержит больше всего этих веществ (листья алоэ, кора дуба, корни одуванчика, цветки василька). Можно было бы предположить, что в качестве экспланта целесообразно использовать клетки именно этого органа, но это не всегда.

По времени размножения растительные клетки удваивают свое число в течение трех суток, тем самым существенно уступая, к примеру, дрожжевым и бактериальным клеткам, у которых время удвоения для большинства видов в глубинных условиях укладывается в 20-30 минут. Однако если перевести культуру растительных клеток на непрерывное выращивание, можно прийти к их высокой продуктивности по вторичным метаболитам или по биомассе.

Получение материала, таким образом позволяет, прежде всего, обрести независимость от влияния климатических, географических и сезонных условий, обеспечить промышленное производство малодоступных и экзотических растений при стабильном выпуске продукции в течение года. При этом фитомасса получается полностью свободной от тяжелых металлов пестицидов и гербицидов при более высоком выходе вторичных метаболитов.

Суспензионные культуры представляют собой относительно гомогенную популяцию клеток, легко подвергающуюся воздействию химических веществ. Суспензионными культурами могут представлять отдельные клетки или совокупность групп клеток, которые выращиваются в жидкой среде во взвешенном состоянии. Широко используют суспензионные культуры в качестве модельных систем для изучения путей вторичного метаболизма, экспрессии генов и индукции ферментов, цитологических исследований, деградации чужеродных соединений и др.

Получают исходные клеточные суспензии из рыхлых, оводненных каллусных тканей (2-3 г на 60-100 мл питательной среды), подвергнутых обработке полигалактуроной и пектиназой, помещаемых в жидкую лишненную ионов кальция питательную среду, но содержащую 2,4-дихлорфеноксисукусную кислоту (ауксин), затем суспензию перемешивают в колбе на качалке, скорость перемешивания при этом составляет 100-120 оборотов в минуту. При выращивании условия поддерживают либо в непрерывном, либо в периодическом режиме, подобранном специально для определенного биообъекта.

При выращивании клеток в суспензионных культурах должны быть сохранены присущие им метаболические пути. Регулируя обмен, можно добиться заметного повышения выхода целевых продуктов. При этом необходимо всегда учитывать тип состояния специализации исходных клеток, дифференцировки, так как от него зависит видоспецифичность первичного и вторичного метаболизма.

Выращивают суспензионные культуры обычно в емкостях роллерного типа после фильтрации первичной суспензии для освобождения от крупных

агломератов клеток через стерильные металлические, марлевые или нейлоновые сита. В «погруженных» условиях выращивание растительных клеток удается редко. Это доказывает недостаточность познания особенностей обмена веществ у различных видов клеток и их культур. Определенные трудности связаны с чувствительностью клеток к механическим повреждениям, их медленным ростом в строго асептических условиях.

Мониторинг рынка биофармации показал, что в настоящее время для получения экономически важных веществ разные страны применяют культуры клеток более ста видов растений. Клеточные культуры используются для сохранения редких видов растений либо тех, которые находятся под угрозой исчезновения; для создания новых видов растений путем объединения клеток других растений; для скрининга не растений, а клеток на наличие каких-то определенных признаков, к примеру, устойчивость к гербицидам.

### **Список использованной литературы**

1. Буркова Е.А. Перспектива применения фитобиотехнологии для получения биологически активных веществ / Е.А. Буркова // Вестник Казанского технологического университета, 2019. – № 14. – С. 352-356.
2. Зюбр Т.П. Использование культуры клеток растений в биотехнологии лекарственных средств: монография / Т.П. Зюбр. – Иркутск, 2018. – 65 с.
3. Носов А.М. Клеточные технологии: настоящее и перспективы / А.М. Носов // Перспективы фитобиотехнологии для улучшения качества жизни на Севере, 2018. – С. 17-19.

*Муравьева А.Б., Маркарова Е.В., Комарова А.А.*

### **ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ ГИМНЕМЫ ЛЕСНОЙ И КОРНЯ СОЛОДКИ У АЛЛОКСАН- ИНДУЦИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ**

По мнению врачей-эндокринологов, при лечении сахарного диабета (СД) необходимо не только добиться стабилизации в работе поджелудочной железы, но и не допустить тяжелых осложнений, связанных с сосудистой системой. Поэтому лечение больных должно быть многофакторным. Это не только прием сахароснижающих препаратов, соблюдению диеты, физические нагрузки, но и поиску веществ, регулирующих обменные процессы [1,2].

Сегодня лекарственные препараты на основе трав становятся все более популярными из-за безопасного использования по сравнению с лекарствами, доступными на рынке.

Так действие экстракта гимнемы лесной (ГЛ), направленно на восстановление физиологических механизмов регуляции уровня глюкозы. Было доказано, что гимнемовые кислоты обладают гипогликемическим действием [3].

Экстракт корня солодки (КС) является очень перспективным фармакологическим препаратом. Корень солодки содержит глицирризиновую кислоту (6-12%), и ее соли, флавоновые гликозиды. По мнению ряда ученых, действующие вещества, входящие в состав КС предотвращают повреждение миокардиоцитов при СД [4].

Цель работы: изучить гипергликемическую активность экстрактов гимнемы лесной и корня солодки при аллоксан-индуцированном диабете.

В эксперименте были задействованы лабораторные крысы массой 150-180 гр, которые находились в стандартных условиях вивария (на базе ФГБОУ ВО СтГМУ). Кормление животных осуществлялось согласно полнорационной сбалансированной диете (ГОСТ Р 50258-92). Исследования проводились по правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 351000.3-96 и 51000.4-96) [5]. Экспериментальные животные (n=40) были поделены на 4 группы: первая группа - контрольная, вторая группа – крысы, у которых был вызван аллоксановый диабет путем однократного подкожного введения аллоксан-тетрагидрата в дозе 150 мг/кг, третья – крысы, получавшие ежедневно по 1 мл комбинированного препарата, содержащего 2% густого экстракта солодки и 4% гимнемы лесной, четвертая группа – животные, с аллоксановым диабетом, которым вводили комбинацию препаратов в той же дозировке.

На 25 сутки производили забор крови из хвостовой вены. В ней определяли содержание глюкозы и гликированного гемоглобина.

Содержание глюкозы в крови определяли глюкозооксидазным методом, с помощью глюкометра Сателлит-Экспресс «ЭЛТА», (Россия). Для измерения уровня гликированного гемоглобина использовали анализатор «Гликогемотест» предоставленной этой же компанией. Длина волны равна 414 нм при измерении оптической плотности.

При статистической обработке данных пользовались непараметрическим методом U-критерий Манна-Уитни.

Исследование углеводного обмена показало, что после введения аллоксана на 25-е сутки у животных наблюдалось повышение содержания глюкозы в крови на 11% ( $p \leq 0,05$ ) в сравнении с показателями контрольной группы. Концентрация гликированного гемоглобина также оказалось выше на 16% ( $p \leq 0,05$ ), чем у интактных крыс.

Введение комплекса ГЛ+КС аллоксан-индуцированным животным приводило к значительному снижению показателей углеводного обмена.

Было выявлено, что под влиянием экстракта ГЛ+КС уровень глюкозы в крови у аллоксан-индуцированных животных снижался в 1,2 раза. При этом содержание гликированного гемоглобина уменьшалось в 1,4 раза, в сравнении со 2-ой группой.

Следует отметить, что применение вытяжки из ГЛ+КС в 3-ей экспериментальной группе животных, вызывало не достоверное снижение показателей углеводного обмена.

Из проведенных экспериментальных исследований следует, что экстракты, содержащие 4% ГЛ и 2% КС у крыс с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом, оказывают положительное влияние на патологические изменения углеводного обмена. По нашему мнению, необходимо обратить внимание на возможность использования этих экстрактов при комплексном лечении сахарного диабета.

#### **Список использованной литературы**

1. Bonner-Weir, S. Perspective: Postnatal pancreatic  $\beta$  cell growth / S. Bonner-Weir // *Endocrinology*. 2000. – Vol. 141. – № 6 – P. 1926-1929
2. Hong Luo, Le Feng Wang, Toshiaki Imoto, et al. // *J.Gastroenterol*, 2001. – Vol. 7 (1). – P. 9-15
3. Абакумчик А.В. Лекарственная флора Урала / А.В.Абакумчик, Г.Г. Карташева, К.С.Мингаев, М.Ю.Карпухин // Учебник для агрономических специальностей вузов. Екатеринбург, 2014.
4. Wu F., Jin Z., Jin J. Hypoglycemic effects of glabridin, a polyphenolic flavonoid from licorice, in an animal model of diabetes mellitus- *Mol. Med. Rep.*, 2013. – Apr., 7(4). – 1278-1282.
5. Правила лабораторной практики в Российской Федерации // Приказ Минздрава РФ от 19 июня 2003 г. №267.

*Павлюкевич Д.С., Топчий М.В.*

#### **БИОСИНТЕЗ ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ**

С нынешней тенденцией активного развития биотехнологий, исследование методов преобразования генетического аппарата клеток, способствующих вводить в них чужие генетические клетки, клонировать их, изменять и получать нужный продукт, представило собой новый этап в биологии. На сегодняшний день результаты этих исследований играют важную роль в развитии медицины. Такие высокомолекулярные органические соединения, как белки и пептиды, до недавнего времени были ограничены в своём количестве, однако с учётом нынешних изменений осуществляется их производство в массовом масштабе и применение с целью лечения многих заболеваний.

Исходя из статистических данных на нынешний год, уровень заболеваний сахарным диабетом составляет 7,1%, что приблизительно 371 миллион человек [3]. Форма диабета СД-1, вызванная потерей способности бета-клетки поджелудочной железы самостоятельно синтезировать гормон инсулин именуется инсулинозависимой. Начиная с 1921 года проводились исследования по выделению данного гормона из поджелудочной железы собаки. Спустя год впервые был проведён опыт на человеке с внедрением гормона полученного таким путем. Согласно научным литературным данным, полученный результат превзошёл все ожидания.

Со временем инсулин стали выделять из поджелудочной железы крупнорогатого скота и свиней. Инсулин этих животных отличался по аминокислотной последовательности от инсулина человека. На тот период многие учитывали основную закономерность, сущность которой заключалась: « чем больше больных диабетом, тем выше потребность в инсулине, по этой причине вполне возможно, что его доступность в будущем уменьшится из-за нехватки исходного сырья – поджелудочной железы животных» [1]. Также было очевидно, что применение инсулина человека влечёт за собой меньшее количество побочных эффектов.

В 1979 году ученые из Калифорнийского национального медицинского центра за несколько месяцев работы синтезировали гены, кодирующие А- и В-цепи инсулина. Синтетические гены, состоящие из 18 и 11 олигонуклидов, вставляли в плазмиду на конце гена  $\beta$ - галактозидазы кишечной палочки (*E. coli* К 12). Полипептид, полученный путем вырезания из фермента, очистки и соединения образованной цепи *in vitro*, позволяет получить полную молекулу инсулина. Следует отметить, что изначально в каждой бактериальной клетке бактериями синтезируется около 100 000 молекул инсулина [2].

В клетках кишечной палочки проводился также биосинтез проинсулина, а не только её отдельных А- и В-цепей. С этой целью на матричной РНК проинсулина при использовании метода обратной транскриптазы преобразовывали её ДНК копию.

Образование молекул инсулина путём сворачивания биосинтеза проинсулина и образования его в дисульфидные связи, достигается преимущественно другим методом, поскольку различные этапы экстракции и выделения гормона сведены к минимуму.

Согласно исследованиям, проведённым компанией «Генетек» в 1978 году, потребовалось десять месяцев, чтобы получить инсулин человека в специально сконструированном штампе кишечной палочки. С этого момента проблема получения инсулина из поджелудочной железы животного была устранена, поскольку его производство в бактериальных клетках не зависит от перебоев в поставках сырья с боен, а также обеспечивает получение человеческого инсулина, применение которого не вызывает неприятных побочных эффектов [5].

На момент 1980 года, началу осуществления клинических испытаний и фармакодинамических исследований синтезируемого гормона во Франции, Японии и США, его количество было дозволительным к. В августе того же года, английская исследовательская группа медиков представила публикацию с данными о проведённых исследованиях получения инсулина на основе кишечной палочки. После ряда удачных экспериментов на животных, препарат был протестирован на людях. Через несколько лет испытаний Управление по контролю за качеством пищевых продуктов, медикаментов и косметических средства, именуемое как FDA, утвердило качество производимого препарата и выдало разрешение на его выпуск в Великобритании. Лекарственное средство синтетического инсулина человека

было названо хумулином [4].

Стоит отметить, что с того момента инсулин человека, синтезированный на основе кишечной палочки, является первым генно-инженерным белком, получившим своё применение в ходе лечения больных диабетом. В тот момент также был оперативно отменён инсулин, полученный на основе поджелудочной железы животных, поскольку его применение повлекло за собой большое количество негативных последствий для здоровья, в отличие от инсулина человека.

### **Список использованной литературы**

1. Пак И.В. Введение в биотехнологию: учебное пособие : [16+] Тюменский государственный университет. – 3-е изд., перераб. и доп / И.В. Пак, О.В. Трофимов, О.А. Величко. – Тюмень: Тюменский государственный университет, 2018. – 160 с.
2. Шуваева Г.П. Микробиология с основами биотехнологии (теория и практика): учебное пособие / Г.П. Шуваева, Т.В. Свиридова, О.С. Корнеева и др.; науч. ред. В.Н. Калаев; Воронежский государственный университет инженерных технологий. – Воронеж: Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2017. – 317 с.
3. Сахарный диабет: статистика распространенности в мире и эпидемиология [электронный режим доступа] - <https://aboutdiabetes.ru/saharnyi-diabet-statistika-rasprostranennosti-v-mire-i-epidemiologija.html>
4. Инсулин: всё об производительных компаниях [электронный режим доступа] <https://insulin--info-ru.turbopages.org/insulin-info.ru/s/>
5. Гусева А.А., Клинический опыт применения инсулина сверхдлительного действия Гусева, А.А., Е.А. Александрова, Ю.В. Хасанова. Медицинский совет / гл. ред. А. Ишмухаметов; учред. и изд. ООО «ГРУППА РЕМЕДИУМ». – Москва: Ремедиум, 2018. – № 6. Терапия. – 185 с.

*Ролетнева Л.Ю., Чурилова Т.М.*

### **КУЛЬТУРЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК КАК БИООБЪЕКТЫ**

Большинство методов клеточной биотехнологии основано на использовании протопластов, культур клеток и тканей. Суть методов – извлечение клеток из тканей растения с последующим помещением их в оптимальные для существования и размножения условия.

Установлено, что выделенные из тканей растения клетки, остаются уникальной биологической системой. Это позволяет использовать их как модель для проведения различных исследований.

Изолированные растительные клетки способны накапливать вещества вторичного синтеза (гормоны, гликозиды, алкалоиды, стероиды, эфирные масла и т.д.), не участвуя при этом в обмене веществ. Благодаря ценности

этих веществ их достаточно широко применяют в медицине и парфюмерии [1].

Очевидно, что данное направление будет развиваться и дальше, поэтому представляет интерес изучение культур растительных клеток в качестве биообъектов.

Способность клетки растения дать начало целому организму на основе имеющейся генетической информации называется тотипотентностью. Используя тотипотентные клетки, получают протопласты, которые используют для культивирования с целью получения каллусной ткани [2].

Культуры изолированных клеток представлены каллусными или опухолевыми тканями.

Каллусная культура – это неорганизованная пролиферирующая ткань, образованная клетками, которые еще не приобрели специализацию.

Для дифференцировки растительных клеток, превращения в каллусную ткань необходимо, чтобы в питательной среде присутствовали такие гормоны как цитокинины и ауксины [3].

Ауксины способствуют натяжению клеточных стенок, способствующему началу пролиферативных процессов. Цитокинины также вызывают множество физиологических эффектов, необходимых для развития культуры растительных клеток.

После дедифференцировки все клетки начинают развиваться по разным путям.

Один из путей развития – осуществление каллусной клеткой нормального цикла развития. К концу этого цикла состарившаяся клетка отмирает, то есть морфогенез прекращается, что является свидетельством протекания стационарной фазы роста.

В процессе морфогенеза неорганизованная масса клеток превращается в организованные структуры. Различают органогенез и соматический эмбриогенез.

Органогенез – процесс, в рамках которого происходит образование отдельных органов – листа, лепестков цветка, стебля. При их использовании возможно выращивание целого растения.

В период соматического эмбриогенеза соматические клетки способны дать зачатки новых структур зародышу. Целое растение может вырасти из зародыша при условии наличия у него меристемы корня или верхушечной почки.

Стимулировать разное поведение клеток можно, меняя баланс ауксина и цитокина. В одном случае они могут начать дифференцироваться, не организованно размножаться. Возможен и другой вариант развития – вторичная дифференцировка.

Толчком для активизации соматических зародышей, которые находятся в каллусной ткани, служит удаление из питательной среды дедифференцирующего фактора. Экзогенные фитогормоны не нужны развивающемуся зародышу, т.к. он обеспечивает себя гормонами

самостоятельно. Этот факт подтверждает гипотезу о том, что при изоляции клетка оказывается способной за счет внутренних ресурсов к тотипотентности, что означает начало морфогенеза.

Кроме культур каллусных клеток в научной практике используются также другие виды культур.

Например, из тканей экспланта получают суспензионные культуры. Эксплант выращивают на специальных жидких питательных средах при постоянном автоматическом перемешивании. Полученная культура представляет собой клетки и агрегаты клеток, отделившиеся от каллусной ткани.

Также, для ферментации суспензионной культуры необходимо поддержание следующих условий: температура питательной среды в пределах 20-30°, постоянная аэрация, определенный объем питательной среды и посевного материала. Поддержание оптимального объема инокулята особенно важно для успешного культивирования, так как в превышающих этот оптимум объемах накапливаются токсичные продукты метаболизма [4].

Образовать «хорошие» линии в условиях суспензионного культивирования способны не все клетки, а только те, которые предрасположены к размножению с высоким коэффициентом и перестройке метаболизма. Как правило, это морфологически выравненные клетки с высокой степенью дезинтеграции (распада клетки на составные части).

Существует ряд преимуществ ферментации суспензионных культур клеток глубинным способом перед ферментацией каллусных тканей поверхностным способом. Здесь проще влиять на рост и обмен веществ клеток экзогенными факторами. Они более удобны для изучения экспрессии и репрессии определенных генов, индукции ферментов и связи их с событиями клеточного цикла, изолирования мутантов.

Суспензионные культуры клеток в биотехнологии используются для получения вторичных метаболитов, селекции клеток, промышленного культивирования клеточной биомассы и получения изолированных протопластов.

Культуры отдельных клеток – важный для физиологических и генетических исследований вид культур растительных клеток. Так как эти исследования проводятся на ткани, полученной из одной клетки, а не из гетерогенной группы клеток, становится проще изучить причины генетической неоднородности каллусных клеток.

Получают культуры отдельных клеток из суспензионных культур, тканей растений, изолированных протопластов. Для выделения одиночной клетки из суспензионной культуры используют метод отстаивания, центрифугирования и фильтрации [5].

Культивирование одиночных клеток из-за трудоемкости трудоемкий процесс, требует определенных условий, поэтому для этих целей разработаны специальные методы. К таким методам относится, например,

метод «ткани-няньки», который основан на отделении одиночных клеток от каллусной ткани фильтровальной бумагой.

С использованием культур растительных тканей, стало возможным получение множества идентичных клонированных растений в течение нескольких месяцев. Это облегчает и ускоряет традиционный селекционный процесс. Поэтому клеточная биотехнология в последнее время приобрела большое значение для сельскохозяйственной промышленности.

Методы культивирования растительных тканей и клеток *in vitro* условно разделяют на две группы: вспомогательные технологии, которые не подменяют традиционные методы селекции, а служат ей, и методы, ведущие к независимому от обычной селекции получению новых сортов растений [6].

К первой группе методов относится оплодотворение *in vitro*, получение гаплоидов при помощи культивирования пыльников и микроспор, культивирование семяпочек, микроразмножение отдельных гибридов, криосахранение тканей, органов и отдельных клеток.

Вторая группа методов объединяет соматическую гибридизацию и клеточную селекцию с использованием каллусной ткани.

Для преодоления программной несовместимости используется оплодотворение *in vitro*. Данный метод применяют для оплодотворения между выбранными растениями, когда это невозможно в естественных условиях. Сформировавшийся при этом зародыш, как правило, сразу прорастает, не переходя в состояние покоя [7].

Соматическая гибридизация позволяет скрещивать эволюционно и генетически отдаленные друг от друга виды растений, которые невозможно скрестить обычным половым путем. С помощью этого метода скрещивают три и более клетки разных растений и получают ассиметричные гибриды.

Благодаря методам клеточной биотехнологии, основанной на использовании протопластов, культур клеток и тканей высших растений, упрощается и ускоряется традиционный селекционный процесс. Появились новые пути создания генетического разнообразия – соматическая гибридизация, слияние изолированных протопластов, клеточная селекция и т.д.

Клеточные технологии позволяют изучать процессы *in vitro* и сравнивать их с процессами *in vivo*. Например, модели *in vitro* используются для изучения геномных и хромосомных aberrаций, влияния фитогормонов на характеристики роста и развития растений. Затем результаты исследований переносятся на природные объекты.

Таким образом, культуры растительных клеток на сегодняшний день имеют большое значение для науки и промышленности, что обуславливает дальнейшее развитие и модификацию методов клеточной биотехнологии растений.

### **Список использованной литературы**

1. Решетникова Т.Б. Основы биотехнологии растений. Культура растительных клеток и тканей. Учебное пособие / Т.Б. Решетникова, Н.А. Гринь. – М.: УМК биологического факультета СГУ им. Н.Г.Чернышевского, 2002. – 45 с.
2. Клунова С.М. Биотехнология / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с.
3. Третьяков Н.Н. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Н.Н. Третьяков, Е.Н. Кошкин, Н.Н. Новиков. – М.: Колос, 2000. – 640 с.
4. Клунова, С. М. Биотехнология / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с.
5. Скурко, Е.В. Генно-инженерные биотехнологии / Е.В. Скурко. – М.: Мир, 2007. – 176 с.
6. Егорова Т.А. Основы биотехнологии / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М.: Издательский центр «Академия», 2008. – 208 с.
7. Войнов Н. А. Современные проблемы и методы биотехнологии: электрон. учеб. пособие / Н. А. Войнов, Т. Г. Волова, Н. В. Зобова и др. ; под науч. ред. Т. Г. Воловой. – Красноярск: ИПК СФУ, 2009.

*Ролетнева Л.Ю., Чурилова Т.М.*

## **МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЖИВОТНЫХ КЛЕТОК**

Методы культивирования животных клеток получают все большее применение в различных исследованиях, биотехнологии и медицине [1]. Это связано с использованием в биотехнологии метода культивирования животных клеток для синтеза биологически активных веществ, клеток-продуцентов, производством вакцин. Благодаря современным медицинским биотехнологиям, стало возможным. С помощью трансплантации культивированных тканей стало возможным восстановление поврежденных органов и тканей.

Методика культивация животных клеток применяется в выведении трансгенных животных, трансплантации эмбрионов, клонировании животных и человека и космической биотехнологии.

В перспективе, при помощи выращивания животных клеток, в мясной промышленности могут использоваться синтезированные ткани животных.

Для культивации используются животные клетки *in vitro*, отличающиеся от клеток в составе организма [2]. Клетки в многоклеточных организмах неразрывно связаны друг с другом. Если эти связи нарушаются, то такая клетка погибает или мутирует. При выделении клеток из живого организма, они также утрачивают почти все прежние связи, но, при создании благоприятных условий, они некоторое время остаются жизнеспособными и даже делятся. Вследствие этого ведется постоянный поиск таких условий.

В настоящее время выделяются различные культуры клеток, выбор которых зависит от цели культивирования.

Первичные культуры клеток, культивируемые в виде монослоя на поверхности из стекла или пластика, к длительному размножению не способны. По истечении некоторого времени в клетках происходит неспецифическая дегенерация из-за естественного затухания их метаболической активности. Первичные культуры клеток получают из ткани животных или человека после механического дробления, обработки протеолитическими ферментами, стандартизации [3].

Первичные культуры клеток, выделенные из почек эмбриона человека, почек обезьян, применяются для выделения и культивирования вирусов, производства противовирусных вакцин.

Однако некоторые клетки сохраняют способность к размножению и росту на фоне дегенерации основной части клеточного пласта. Такие клетки при неоднократных перевивках приводят к получению перевиваемых культур клеток. Дифференцируют штаммы и линии перевиваемых клеток. Линии перевиваемых клеток – это клетки, которые характеризуются потенциальным бесконечным делением и ростом и имеют гетероплоидный кариотип. Перевиваемые клеточные штаммы – полуперевиваемые клетки с ограниченной продолжительностью существования *in vitro*, но имеющие диплоидный набор хромосом. Появление данных видов перевиваемых клеток связано с процедурой отбора в популяции клеток первичных культур.

Получают линии перевиваемых клеток из различных тканей животных и человека. Альтернативным источником являются злокачественные раковые опухоли. Так как раковые клетки не обладают пределом числа делений, их возможно культивировать в неограниченном объеме.

Трансфицированные клеточные культуры относятся к экспериментальным линиям клеточных культур, полученных с помощью метода трансфекции генов вирусов, способных контролировать биологический синтез поверхностных антигенов. Эти клеточные культуры преобразуют поверхностный белок конкретного вируса на клеточной мембране. Такие клеточные культуры применяются для создания иммунобиологических и химиотерапевтических лекарственных препаратов, а так же для исследования механизмов зарождения и развития болезней вирусных инфекций [4].

Для культивирования животных клеток используются особые питательные среды, которые готовятся на базе сбалансированного солевого раствора (это чаще всего растворы Эрла и Хенкса) и сыворотки животных (быка, теленка, лошади). Ростовые среды, предназначенные для промывания тканей, дополняют антибиотиками.

Одни из самых распространенных питательных сред для выращивания животных клеток – среда Игла, Дульбекко, Мак Коя и среда 199 [5].

В культивировании штаммов животных клеток выделяют два основных направления: монослойные и суспензионные культуры [6].

Монослойные культуры растут в виде монослоя, прикрепленного к субстрату (другим клеткам, стеклу, пластику, металлу). Недостаток такого

типа культивирования заключается в том, что первичные клетки и некоторые клеточные линии могут претерпевать контактное торможение движения (когда в зоне контакта клеток прекращаются специфические движения клеточной мембраны и размножение прекращается). Однако, ослабить контактное торможение можно путем трансформации клеток вирусами.

Суспензионные культуры используются в биотехнологии для наращивания клеточной массы. Как правило, клетки, отделившиеся от субстрата, на котором они росли, неспособны к росту в суспензии и быстро отмирают. Но если некоторые клетки выращивать во вращающемся флаконе, можно получить жизнеспособные суспензионные клеточные штаммы. Иногда для получения суспензионной культуры этого бывает достаточно, но обычно требуются специальные емкости для культивирования суспензий и использование среды с дефицитом ионов кальция и магния. Суспензионное культивирование 2–3 раза экономичнее, чем монослойное культивирование [7].

Существует еще одно направление культивирования штаммов животных клеток, которое сочетает в себе положительные стороны монослойного и суспензионного культивирования – монослойное культивирование на микроносителях. Микроносители – мелкие твердые частицы (поддерживаемые в суспензии благодаря перемешиванию), на поверхности которых клетки растут в виде монослоя [8].

Культивирование животных клеток – это база для современных исследований в различных областях науки. Новые методы культивирования стали возможны благодаря разработке новых питательных сред и создания специального оборудования.

В настоящее время в промышленных объемах в биореакторах при помощи клеток человека и животных производится множество ферментов, гормонов (например, инсулина), а так же интерферона, фактора свертывания крови, многочисленных вакцин и других препаратов.

Для культивирования используются различные культуры животных клеток и для поддержания их жизнедеятельности необходимы особые условия, которые постоянно дополняются и совершенствуются.

### **Список использованной литературы**

1. Блажевич О.В. Культивирование клеток: Курс лекций / О.В. Блажевич. – Мн: БГУ, 2004. – 78 с.
2. Просеков А. Ю. Общая биология и микробиология: учебное пособие / А. Ю. Просеков. – Санкт–Петербург: Проспект науки, 2012 г. – 318 с.
3. Чечина О.Н. Общая биотехнология / О. Н. Чечина. – М: Юрайт, 2019 г. – 231 с.
4. Helgason Press, Cheryl D., Miller, Cindy L., Basic Cell Culture Protocols. – Business Media, LLC 2013г. – 546 p.
5. Вечканов Е.М. Основы клеточной инженерии / Е.М. Вечканов, И.А. Сорокина. – Ростов н /Д: ЮФУ, 2012. – 23 С.

6. Шепелин, И. А. Питательные среды: справочник бактериолога / И. А. Шепелин, А. Ю. Миронов, К. А. Шепелин. – М: Эпидбиомед-диагностика, 2014. – 151 с.
7. Сазыкин Ю. О. Биотехнология : учебное пособие для студентов высших учебных заведений / Ю. О. Сазыкин, С. Н. Орехов, И. И. Чичкалева. – М: Академия, 2006. – 256 с.
8. Акиншина Г. Т. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии) / Г. Т. Акиншина, В. С. Белоконь, Н. М. Билько. – М: Спутник плюс. – 2009 г. – 652 с.

*Страх Я.Л., Альшевская Л.В, Игнатовец О.С.*

### **АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЧАСТЯХ МОРОШКИ ПРИЗЕМИСТОЙ (*RUBUS CHAMAEMORUS L.*)**

Одной из важных задач фармакогнозии на современном этапе развития является не только поиск новых источников биологически активных веществ, но и определение частей растений, максимально накапливающих необходимый спектр соединений. Наиболее интересными среди веществ, которые обладают широким диапазоном активностей, являются фенольные соединения.

Морошка приземистая – *Rubus chamaemorus L.* – травянистое растение семейства розовых (*Rosaceae*). На территории Республики Беларусь проходит южная граница ареала обитания данного растения.

Цель работы – исследовать фенологические особенности накопления фенольных соединений и флавоноидов у морошки приземистой произрастающей на территории Республики Беларусь.

В качестве объекта исследования был использован вид *Rubus chamaemorus L.*, исчезающий вид на территории Беларуси. В растениях определялось количественное содержание внутриклеточных фенольных соединений и флавоноидов. Количественное содержание данных веществ анализировали в экстрактах различных частей растений: листовые пластинки, черешки, корни и соцветия. Сбор растительного материала проводился в период цветения на территории заказника «Лонно» (время сбора – июнь 2020 г.).

Экстракцию измельченного сырья проводили при температуре 60 °С в течение 40 минут, соотношение сырье : экстрагент 1 : 50, концентрация этанола 70%.

Исследование содержания фенольных соединений в экстрактах определяли методом Фолина-Чокальтеу в модификации Синглетона и Росси [1].

Содержание внутриклеточных фенольных соединений в экстрактах рассчитывали по формуле:

$$F = \frac{C_F \cdot V_3}{m \cdot (1 - W) \cdot 1000},$$

где F – общее содержание внутриклеточных фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту, мг-экв галловой кислоты/г сухого веса; C<sub>F</sub> – концентрация фенольных соединений, рассчитанная по калибровочной кривой, исходя из оптической плотности реакционных смесей, мг-экв галловой кислоты /л; V<sub>Э</sub> – общий объем экстракта, мл; m – масса навески, г; W – влажность сырья, доли; 1000 – коэффициент перевода л в мл.

Количественное определение содержания флавоноидов проводили по методике [2].

Суммарное содержание флавоноидов (X, мг-экв рутина / г абсолютно сухого сырья) в исследуемых экстрактах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot C_{ст} \cdot V_{Э} \cdot 1000}{A_{ст} \cdot m \cdot (1 - W) \cdot V_x \cdot 100}$$

где A<sub>x</sub> – оптическая плотность исследуемого раствора; C<sub>ст</sub> – концентрация стандартного раствора рутина, %; V<sub>Э</sub> – общий объем экстракта, мл; 1000 – перевод граммов в миллиграммы; A<sub>ст</sub> – оптическая плотность стандартного раствора рутина; m – масса навески, г; W – влажность сырья, доли; V<sub>x</sub> – объем исследуемого экстракта, мл; 100 – перевод из %-ой концентрации в мг-экв / г.

Таблица

Результаты исследований содержания внутриклеточных фенольных соединений и флавоноидов в различных частях морошки приземистой

Объект исследования	Содержание внутриклеточных фенольных соединений, мг-экв галловой кислоты / г абсолютно сухого сырья	Содержание флавоноидов, мг-экв рутина/ г абсолютно сухого сырья
Листовые пластинки	99,41±4,27	66,38±2,71
Цветки	87,33±3,16	67,47±2,88
Черешки	48,54±1,45	23,43±1,04
Корни	79,74±3,01	1,6±0,08

Результаты проведенных исследований демонстрировали достаточно высокий потенциал накопления фенольных соединений. Из данных таблицы можно видеть, что существует органоспецифичность содержания как фенольных соединений, так и флавоноидов. Максимальное количество внутриклеточных фенольных соединений установлено в листовых пластинках, наименьшее – в черешках. Однако, для флавоноидов наблюдались сопоставимо высокие содержания как в цветках, которые относятся к генеративным тканям, так и в листовых пластинках, которые являются вегетативными. Исходя из приведенных данных, можно предположить, что одним из факторов, влияющих на распределение флавоноидов в частях морошки связано с интенсивностью освещения. Такого

рода закономерности установлены учеными для многих видов растений [3]. Следовательно, наименьшие количества флавоноидов наблюдались в корнях морошки приземистой.

#### Список использованной литературы

1. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent // *Methods in Enzymology*. 1999. Vol. 299. P. 152–178. DOI:10.1016/s0076-6879(99)99017-1.
2. Мальцева Е.М. Количественное определение суммарного содержания флавоноидов в траве кровохлебки лекарственной / Е.М. Мальцева, Н.О. Егорова, И.Н. Егорова // *Вестник уральской медицинской академической науки*, 2011. – № 3(1). – С. 68.
3. Мерзляк М.Н. Пигменты, оптика листа и состояние растений / М.Н.Мерзляк // *Биология*, 1998. – № 4. – С. 19–24.

*Топчий М.В., Белокопытова В.А.*

### РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НА ОСНОВЕ *PLANTAGO MAJOR* И *KALANCHOE DAIGREMONTIANA*

Формирование микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью делает малоэффективным применение многих синтетических лекарственных средств, поэтому важной задачей современной науки является поиск новых антимикробных средств с иным механизмом действия. Источником таких средств могут стать лекарственные растения.

Имея сложный химический состав, препараты из лекарственных растений обладают широким спектром действия, низкой токсичностью, мягким комбинированным действием, возможностью длительного применения и отсутствием побочных явлений.

Таким образом, разработка мягкой лекарственной формы обладающей антибактериальной и противовоспалительной активностью на основе растительного сырья (*Plantago major* и *Kalanchoe daigremontiana*), является актуальной задачей, так как предложенные нами в качестве действующего вещества растения по своей биоцидной активности, противовоспалительному и иммуномодулирующему действию эффективнее многих используемых, но при этом менее токсичны.

Цель исследования заключалась в разработке технологических процессов приготовления мази на основе *Plantago major* и *Kalanchoe daigremontiana*.

Для разработки мази использовался тканевой препарат из каланхоэ Дегремона и экстракт сухой подорожника большого.

Терапевтическая эффективность мазей в значительной степени зависит от композиционного состава основообразующих компонентов. Нами были

использованы мазевые композиции гелевого, гидрофильного и липофильно-гидрофильного характера. В результате оценки способности мазевых основ высвободить действующее вещество методом диффузии в агаровый гель определен оптимальный состав мази «Пландег».

Степень антибактериальной активности мази «Пландег» оценивалась по величине зоны задержки роста тест-микроорганизмов. Все исследуемые образцы мазей на основе *Plantago major* и *Kalanchoe daigremontiana* обладают бактерицидной активностью в отношении *S. Aureus*, обладает бактерицидной активностью в отношении *E. Coli* и *Ps. Aeruginosa*, обладает фунгицидной активностью в отношении *C. Utilis*.

В результате изучения противовоспалительной активности мази «Пландег» на модели кожно-мышечной раны у экспериментальных животных было установлено, что в группе животных, раны которых обрабатывались мазью «Пландег» сокращение размеров ран, сроков отпадения первичного струпа и полного заживления происходило в 3 раза быстрее по сравнению с контрольной серией (без местного лечения)

Таким образом, установлено, что мазь «Пландег» достоверно оказывала противовоспалительное действие, ускоряла процесс регенерации тканей и не только не уступала по действию зарегистрированному препарату «Фитокрем», но и показывала лучшие результаты.

Рекомендуется использовать свежесобранные побеги каланхоэ Дегремона и листья подорожника большого для приготовления лекарственных препаратов. Разработанная мазь «Пландег» на основе *Plantago major* и *Kalanchoe daigremontiana* обладающая противовоспалительным и антибактериальным действием рекомендуется для лечения ран.

**Топчий М.В., Пажитнев М.П.**

## **ВАЙДА КРАСИЛЬНАЯ КАК ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

Вайда красильная, как и другие виды, принадлежащие к семейству Brassicaceae, демонстрирует интересный химический профиль, характеризующийся большим разнообразием соединений. *I. tinctoria* представляет собой ценный источник биологически активных соединений, таких как алкалоиды, фенольные соединения, полисахариды, глюкозинолаты, каротиноиды, летучие компоненты и жирные кислоты.

Вайда красильная является важным источником двух известных индольных алкалоидов, называемых индиго и индирубин. Первый имеет синий цвет вместо второго, который имеет красный цвет, и оба они широко используются для окрашивания текстиля, косметики, продуктов питания и фармацевтических препаратов. Растение не может синтезировать непосредственно в индигоидные пигменты, но оно производит несколько

предшественников: индикан, изатан А, изатан В и изатан С. Когда листья повреждаются и подвергаются воздействию воздуха, предшественники подвергаются ферментативному гидролизу с помощью  $\beta$ -D-глюкозидазы и  $\beta$ -глюкуронидазы. После расщепления O-гликозидной связи индоксил высвобождается, давая, в свою очередь, индиго (синие индигоидные пигменты) в процессе окисления и продуцируя изатин в качестве побочной реакции благодаря богатой кислородом среде. В конце концов, конденсация индоксила с изатином дает индирубин (красный индигоидный пигмент), в то время как конденсация с диоксиндолом, происходящим из изатана С, производит изоиндирубин (красный индигоидный пигмент).

Индикаторы предшественников индиго, а также изатаны В и С были обнаружены в экстрактах *I. tinctoria* из молодых и старых свежих листьев. Более того, количество предшественников индиго в этих образцах было определено той же группой, которая установила, что основным предшественником был изатан В. Концентрация предшественников индиго была выше в молодых свежих листьях, чем в самых старых.

В высушенных на воздухе листьях идентифицировали изатан А как основной индоксилгликозид.

В высушенных корнях Вайды красильная, были обнаружены два новых и пять известных индол-алкалоидных гликозидов.

В листьях розеток содержится большая группа конъюгатов между гидроксидинамовой кислотой и гексозой или дигексозой (10 соединений), глицератом (два соединения), малатом (одно соединение) или глюкариновой кислотой (45 соединений).

Вайда красильная является источником глюкозинолатов, которые являются продуктами синтеза и хранения изотиоцианатов.

В корнях Вайды красильной содержатся полисахариды.

Микроэлементный анализ семян *I. Tinctoria* включает: К (3493 мг / кг), Са (2173 мг / кг), Р (625,6 мг / кг), Mg (593,0 мг / кг), Fe (77,54 мг / кг), Al (74,78). мг / кг), Na (66,31 мг / кг), Mn (7,383 мг / кг), Ni (4,789 мг / кг), Pb (2,493 мг / кг), Cu (1,888 мг / кг), Cr (0,630 мг / кг). кг) и Cd (0,250 мг / кг).

Таким образом, все части Вайды красильной являются источниками биологически активных веществ, которые можно извлекать различными способами, в зависимости от целей использования.

*Фофанова Ю.Ю., Топчий М.В.*

## **ОСОБЕННОСТИ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ**

Значимым свойством лекарственных растений является то, что содержащиеся в них биологически активные вещества в большинстве случаев извлекаются без каких-либо усилий и хорошо растворимы в водной среде. Важной составляющей приготовления водных извлечений является то, что этот процесс не требует сложного механизма. В сравнении с

лекарственными препаратами, к преимуществам водных извлечений можно отнести низкую степень проявления побочного эффекта, более мягкое действие на организм, возможность длительного применения и хорошую переносимость.

Существует ряд особенностей технологии получения водных извлечений из растительного лекарственного сырья, определенных фармакопеей.

Согласно фармакопейным статьям водные извлечения являются жидкими лекарственными формами, полученными из растительного лекарственного сырья или смеси сухих или жидких экстрактов. К данной классификации относятся полидисперсные системы, такие как настои и отвары. Эти лекарственные формы употребляются для лечения хронических, вялотекущих заболеваний. Они не предназначены для оказания первой медицинской помощи.

Отвары и настои могут представлять собой сложные лекарственные препараты на основе водных извлечений, содержащих различные лекарственные вещества или без посторонних лекарственных веществ – однокомпонентные и многокомпонентные.

При подготовке водных извлечений используется растительное лекарственное сырьё в виде порошка, измельченное или цельное. Сырьё должно отвечать требованиям соответствующих нормативных документов или фармакопейных статей. От того, какая часть растения используется в качестве сырья, зависит размер последующего измельчения. Например, листья и цветки измельчают до частиц не более 5 мм, корневища и корни – не более 3 мм. На начальном этапе приготовления, сырьё требуется поместить в перфорированный стакан, затем в инфундирный аппарат, нагретый на водяной бане в течении 15-20 минут. Затем необходимо залить водой, учитывая соответствующий коэффициент водопоглощения, и закрыть крышкой. Настаивание происходит на кипящей водяной бане. Для того, чтобы получить готовый продукт, инфундирный аппарат убирают с водяной бани и оставляют при комнатной температуре на некоторое время (для плодов, побегов, почек, семян – режим отвара 10-15 минут, для листьев, цветков, трав – режим настоя 40-45 минут), затем процеживают и добавляют воду до определенного объёма извлечения. Для того, чтобы определить объём воды для приготовления необходимого количества водного извлечения, пользуются следующей формулой: сумма требуемого объёма извлечения и дополнительного количества воды, взятого с учётом коэффициента водопоглощения, для компенсации адсорбции жидкости сырьём. В свою очередь, дополнительное количество воды вычисляют в результате умножения прописанной массы растительного лекарственного сырья на коэффициент водопоглощения.

Приготовление водных извлечений из сильнодействующего лекарственного растительного сырья имеет некоторую особенность. Так, лекарственное растительное сырьё применяют с определенным содержанием

действующих веществ или с определенной биологической активностью. Такое сырьё берётся в меньшем количестве, чем прописано в стандартном получении водных извлечений. Например, для получения 400 объёмных частей водного извлечения из травы термопсиса рекомендуется брать 1 массовую часть растительного лекарственного сырья (1:400).

Срок годности настоев и отваров указывается на этикетке или в сопроводительной документации. Для увеличения срока хранения применяют консерванты, такие как сорбиновая кислота.

Очевидно, что при приготовлении настоев и отваров, которые относятся к водным извлечениям из растительного лекарственного сырья, следует исходить из принципа индивидуального подхода. На сегодняшний день настои и отвары не теряют актуальности в использовании, так как они могут применяться для лечения хронических и вялотекущих заболеваний. К плюсам следует отнести то, что некоторые из них возможно с лёгкостью приготовить в домашних условиях.

#### **Список использованной литературы**

1. Елинов Н.П. Основы биотехнологии / Н.П. Елинова. – СПб.: Фирма «Наука», 1995. – С. 223-224.
2. Тихонов А.И. Технология лекарств / А.И. Тихонов, Т.Г. Ярных. – Х.: Издательство НФАУ, 2002. – 45 с.
3. Прищеп Т.П. Основы фармацевтической биотехнологии: Учебное пособие / Т.П. Прищеп, В.С. Чучалин, К.Л. Зайков. – Ростов-на-дону.: Феникс; Томск: Издательство НТЛ, 2005. – С. 97-98.
4. Соколов С.Я. Справочник по лекарственным растениям / С.Я Соколов, И.П. Замотаев. – 2-е изд., стер. Москва: Медицина, 2002. – 314 с.

*Шачева Е.М., Панова Н.В.*

#### **БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ СВОЙСТВ МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ОСНОВЕ *NIGELLA SATIVA L.***

Создание современных мягких лекарственных форм базируется на биофармацевтических исследованиях, которые реализуются с применением различных методов, используемых в зависимости от вида и состава разрабатываемого лекарственного препарата, способа и цели его применения [1].

С развитием биофармации особое место в оценке качества лекарственных препаратов занимает определение высвобождения действующих веществ в опытах *in vitro* методом диффузии в агаровый гель [2]. Изучение высвобождения позволяет проводить сравнительное исследование основ и других вспомогательных веществ, обеспечивающих влияние на эффективность лекарственной формы. Критерием оценки используемых основ в мазях служит скорость и степень высвобождения действующих веществ из различных мазевых составов.

Исследованиям подвергали разработанные нами мазь и пасту на основе масла и экстракта *Nigella sativa L.* Определение проводили методом прямой диффузии в 2% агаровый гель, содержащий раствор железа (III) хлорида в качестве индикатора. Количество высвободившейся суммы действующих веществ из мази определяли по диаметру зоны окраски с индикатором.

Мазь и пасту, приготовленные нами и тетрациклиновую мазь, помещали в лунки двух пронумерованных чашек с агаром. Гель в лунки вносили с помощью стеклянной палочки, осуществляя контроль за тем, чтобы был хороший контакт с агаром. Чашки помещали в термостат с температурой 37 ° С.

Через 0,5, 1, 2, и 3 часа с помощью штангенциркуля измеряли диаметр окрашенной зоны. В случае образования эллипса измеряли больший и меньший диаметр и определяли среднее значение диаметра окрашенной зоны. Линейные размеры этой зоны соответствуют степени диффузии активного лекарственного вещества из мази.

Было установлено, что по мере диффузии лекарственных вещества из всех испытуемых мазевых препаратов мази окрашенная зона геля изменялась в сторону увеличения. Окрашенные зоны измерялись нами через 0,5, 1, 2, 3 часа штангенциркулем. Определяли больший и меньший диаметры окрашенных зон и вычисляли среднее значение их диаметра.

Метод агаровых пластинок, являющийся ориентировочным для выявления полноты высвобождения лекарственных веществ из лекарственных форм и оценки качества мази, показал, что биологически активные вещества масла и экстракта *Nigella sativa L.* уже через час высвобождались из препаратов в гель – зона окрашивания составила в среднем 11,1 мм, тогда как у официального препарата «Тетрациклиновая мазь» показатель был несколько ниже – 10,4 мм, что, по-видимому объясняется отсутствием в препарате загустителя и небольшим процентным содержанием ланолина.

Анализ проведенного исследования показывает, что самую высокую степень высвобождения лекарственных веществ имеет официальный препарат «Тетрациклиновая мазь». Всего на 0,2 мм меньше диаметр зоны окрашивания мазь с экстрактом *Nigella sativa L.* Несущественно отличался показатель адсорбции пасты, всего на 1,0 мм. По всей видимости, это связано с наличием жирного масла в ее составе. Через три часа после начала эксперимента зоны абсорбции мази на основе экстракта Чернушки посевной и официальной мази перестали увеличиваться, в то время как зона абсорбции пасты продолжала увеличиваться, из чего можно сделать вывод о возможности разработки мягких лекарственных форм пролонгированного действия.

Итоговые показатели высвобождения лекарственных веществ из мази и пасты, приготовленных на основе растительного сырья тмина практически равны данным по официальному препарату «Тетрациклиновая мазь», что говорит о потенциале разработанных мягких форм.

Исследование фунгицидных свойств, разработанных мягких лекарственных форм препаратов на основе масла и экстракта *Nigella sativa L.* проводились с использованием тестового микроорганизма. Работы по посеву чистой культуры *Candida albicans L.* проводились в боксе абактериальной воздушной среды БАВ – «Ламинар.-с.»-1,2 LS (110.120). Чистая культура *Candida albicans L.* была приготовлена из дисков BD Microtrol путём растворения диска в заранее стерилизованной пробирке в жидкой питательной среде.

Для определения однородности культуры *Candida albicans L.*, мазки изготавливали и окрашивали по методу Романовского-Гимзе. Под микроскопом чистая культура *Candida albicans L.*, представляет собой отдельные клетки округлой формы. Строение грибов *Candida albicans L.*, включает также в себя несколько вытянутых клеток, расположенных цепочкой – это нити их ложного мицелия, или псевдомицелия. Ложным он называется потому, что образуется в процессе почкования, а не полового размножения, как у истинных дрожжей. На перетяжках псевдомицелия видны маленькие округлые клетки – бластоспоры. Это дочерние клетки, споры бесполового размножения. Более крупные округлые клетки – это хламидоспоры (споры с двойной оболочкой). Наличие ложного мицелия и отсутствие полового размножения – главная особенность дрожжеподобных грибов.

Для определения фунгицидных свойств экспериментальных препаратов проводили посев чистой культуры «газоном». Для этого, приоткрыв левой рукой крышку чашки Петри, бактериологической петлей наносили посевной материал на поверхность питательного агара. Затем проводили шпатель сквозь пламя горелки, остужали его о внутреннюю сторону крышки и растирали материал по всей поверхности среды. Все манипуляции, связанные с посевом микробных культур, производили в пламени горелки.

Для оценки противогрибкового действия разработанных мягких лекарственных форм чашки Петри с предварительно засеянной культурой *Candida albicans L.* разделили на четыре экспериментальные группы. Стерильные диски наносились на поверхность чашек Петри, засеянных *Candida albicans L.* Предварительно диски обрабатывались приготовленными исследуемыми препаратами. После проведенных манипуляций чашки Петри помещались в термостат с оптимальной температурой для развития кандид (37 °С).

Каждый день однократно проводился контроль антимикотического действия на *Candida albicans L.* Биологическую активность разработанных препаратов оценивали в течение 14-и дней. Для учета результатов определяли диаметр зоны задержки роста гриба вокруг дисков, пользуясь микрометром. Отсутствие задержки роста микробов указывает на резистентность исследуемого микроба к данному препарату. Зоны, диаметр которых не превышает 15 мм, свидетельствуют о слабой чувствительности к препарату. Зоны от 15 до 25 мм встречаются у чувствительных микробов.

Высококочувствительные микробы характеризуются зонами с диаметром более 25 мм.

Результаты общего сравнительного анализа антимикотического действия исследуемых препаратов представлены в таблице.

Таблица

Изучение эффективности антимикотического действия  
исследуемых препаратов

Название группы	Диаметр зоны ингибирования роста культуры <i>Candida albicans L.</i> , мм			
	3 день	7 день	10 день	14 день
1. Мазь на основе экстракта <i>Nigella sativa L.</i>	10±0,4	14±0,5	17±0,5	17±0,2
2. Паста на основе масла <i>Nigella sativa L.</i>	11±0,3	12±0,3	12±0,3	13±0,3
3. Флуконазол	13±0,2	17±0,2	19±0,2	26±0,2
4. Контрольная группа	0	0	0	0

Анализ результатов исследований, представленных в таблице, свидетельствует, что показатель зоны ингибирования роста *Candida albicans L.* по отношению к контролю отмечен с первой по третью группы. Наиболее выраженным антимикотическим действием обладает Флуконазол. Но этот препарат является официально разрешенным противогрибковым средством и имеет химическую природу (производное триазола). Нами он был использован в качестве препарата сравнения. Мазь на основе экстракта *Nigella sativa L.* в сравнении с Флуконазолом проявила более слабый противогрибковый эффект, но это говорит о достаточно высоком потенциале исследуемого растительного сырья.

В результате проведенного эксперимента было установлено, что мазь на основе сухого экстракта *Nigella sativa L.* является перспективной мягкой лекарственной формой обладающей противогрибковым действием в отношении *Candida albicans L.*

#### Список использованной литературы

1. Илиев К.Н. Фармацевтический анализ мази «Тримезоль» с использованием спектрофотометрии // Сборник научных статей по итогам международной научно-практической конференции 30-31 марта 2015 года К.Н. Илиев, Т.А. Кобелева, А.Н. Сичко. – СПб., 2015. – С. 45-47.

2. Никитина Н. В Разработка дерматологической мази с экстрактом почек *Populus nigra* / Н. В.Никитина, С. Н. Степанюк // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация, 2010. – №16 (87)

*Шелудько П.А.*

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОГЕННЫХ И САПРОФИТНЫХ ШТАММОВ ЛЕПТОСПИР**

Лептоспироз – острое инфекционное заболевание, относящееся к антропозоонозам, которое вызывается патогенными бактериями, принадлежащих семейству *Leptospira*, классу спирохет. Это остро протекающее заболевание, сопровождающееся увеличением селезёнки, желтухой, нефритом, а также существенно отличающееся от всех ранее известных к тому времени видов желтухи [2, 5].

Классические серологические методы диагностики лептоспирозов, на сегодняшний день, недостаточны для изучения персистенции и репродукции возбудителя в органах и тканях *in vivo*, служащие целью выявления лептоспиноносителей, а также подбор наиболее пригодных для культивирования штаммов, используемых для производства противолептоспирозных вакцин [1, 3].

Несмотря на то, что лептоспироз является одним из наиболее распространенных антропозоонозов на планете, данное заболевание существенно уступает другим бактериальным инфекциям по степени изученности вирулентности. Данное обстоятельство объясняется высокой вариабельностью серотипов лептоспир, а также появлением новых серотипов, геном которых не изучен, как и механизмы их воздействия с организмом хозяином [7].

Использование ПЦР и секвенирования геномов патогенных и сапрофитных лептоспир позволило выявить сотни генов, которые кодируют вирулентные свойства серотипов данного микроорганизма, а также были определены потребности лептоспир в разного рода микроэлементах питания данных микроорганизмов [5, 9].

Лептоспиры являются строгими аэробами и растут в микроаэрофильных условиях, так как у лептоспир в полном размере присутствует геном, который кодирует цикл трикарбоновых кислот, и компоненты дыхательной транспортной цепи. Благодаря этому, лептоспиры синтезируют АТФ через окислительное фосфорилирование. Бактериальные клетки *L.interrogans* используют кислород в качестве конечного акцептора электронов. Для роста *Leptospira* 9 необходим азот.

В роли источника азота является аммиак получаемый зачастую из мочевины. Лептоспиры, еще, особенны тем, что основным источником

углерода для них является бета-окисление длинных жирных кислот(содержащих более 15-ти атомов углерода) Представители данного рода спирохет не могут самостоятельно синтезировать жирные кислоты из ацетата и пирувата и поэтому должны получать их извне [2, 4, 6].

Наиболее перспективным направлением в определении генома штаммов лептоспир, с целью изучения механизмов персистенции и подбора наиболее пригодного для культивирования штамма, является использование молекулярно-биологического метода-секвенирования участка генома прокариотической клетки [2, 6].

В генетическом аппарате патогенных лептоспир повсеместно обнаруживаются пути для синтеза нуклеиновых и аминокислот, помимо этого, отличительной особенностью возбудителей лептоспирозных инфекций является способность репродуцироваться в питательных средах которые содержат, 8-азагуанин – аналог пурина Внесение 8-азагуанина в питательную среду служит надежным способом дифференцировки сапрофитных и патогенных форм при культивировании лептоспир [4].

Подавляющее большинство представителей рода *Leptospira*, геном которых секвенирован, содержит две кольцевые хромосомы. Одна из которых содержит кодирующие белки репликации нуклеиновых кислот, а вторая – ряд существенных генов, участвующих в синтезе аминокислот. Также в геноме патогенных лептоспир закодировано необычайно большое количество белков, функция которых достаточно не изучена или не определена совсем [10].

При помощи вышеупомянутых современных молекулярно генетических методов ПЦР и секвенирования геномов лептоспир в реальном времени, становится возможным выявление не только общего количества возбудителей лептоспироза в очагах поражения, но и определение корреляции между количеством лептоспир, определение количества генов, кодирующих те или иные функции бактерии, степени тяжести вызываемых ими патологий, что позволяет выявлять наиболее уязвимые органы и ткани. [3,6,7]

Помимо этого, данные, полученные таким образом могут помочь в получении знаний о динамике распространения лептоспир внутри организма хозяина в течение заболевания и выявить возможные паттерны поражения органов и тканей. Еще одним немаловажным аспектом данного знания является возможность адекватного подбора компонентов питательных сред и оптимизации условий культивирования патогенных штаммов лептоспир в условиях современного биопроизводства. Это позволяет расширить спектр предлагаемых профилактических препаратов, выпускаемых с целью предупреждения данного заболевания [1, 10, 11].

Выводы:

1. Несмотря на многолетнюю историю изучения патогенных и сапрофитных представителей рода *Leptospira*, молекулярно-генетические

детерминанты патогенеза лептоспирозных инфекций остаются слабоизученными или совсем неизученными.

2. Своевременная серологическая диагностика лептоспироза достаточно сложна или ретроспективна и не пригодна для ранней диагностики заболевания.

3. Метод секвенирования и ПЦР в реальном времени – это главные молекулярные методы идентификации патогенных лептоспир в клиническом материале – в реальном времени могут успешно применяться для изучения персистенции возбудителя в органах и тканях хозяина, а также подбору оптимальных условий культивирования лептоспир, что позволит заложить основу для эффективного лечения и профилактики лептоспироза у человека и животных.

### Список использованной литературы

1. Каталог вакцин, зарегистрированных в России. URL: [http://www.epidemiolog.ru/catalog\\_vac/](http://www.epidemiolog.ru/catalog_vac/)
2. Коротяев А.И. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник для медицинских и фармацевтических вузов / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. – СПб: СпецЛит, 2012. – 5-е изд, испр. и доп. – с. 745-752.
3. «Полимеразная цепная реакция (ПЦР)». Национальный центр биотехнологической информации. Национальная медицинская библиотека США, n.d.
4. Adler B., de la Peña Moctezuma A. (2010) *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 140:287–296.
5. Adler B, Lo M, Seemann T, Murray GL (2011) Pathogenesis of leptospirosis: the influence of genomics. *Vet. Microbiol.* 153:73–81.
6. Adler B. (2015), *Leptospira* and Leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 387.
7. Alston J.M., Broom J.C. (1958) *Leptospirosis in man and animals*. E. & S. Livingstone, Edinburgh.
8. Bajani M.D., Ashford D.A., Bragg S.L., Woods C.W., Aye T., Spiegel R.A., Plikaytis B.D., Perkins B.A., Phelan M., Levett P.N., Weyant R.S. (2003) Evaluation of four commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. *J. Clin. Microbiol.* 41:803–809.
9. Ballard S.A., Go M, Segers R.P., Adler B. (1998) Molecular analysis of the *dnaK* locus of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. *Gene* 216:21–29.
10. Barocchi M.A., Ko A.I., Reis M.G., McDonald K.L., Riley L.W. (2002) Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but nonintracellular pathogen. *Infect. Immun.* 70:6926–6932.
11. Batzios S.P., Zafeiriou D.I., Papakonstantinou E. (2013) Extracellular matrix components: an intricate network of possible biomarkers for lysosomal storage disorders? *FEBS Lett* 587:1258– 1267.



*Астамирова Т.С., Чурилова Т.М.*

### **ПРИМЕНЕНИЕ 3D-ПЕЧАТИ В МЕДИЦИНЕ**

Биопечать – это прогрессивный и перспективный раздел медицины, который возник в процессе стремительного развития аддитивных технологий. Пациентам приходилось ждать многие месяцы, а возможно и года, органы от подходящего пациента. В настоящее время в исследовательских центрах и клиниках многих стран достижения и успехи в области 3D-печати и биопечати дают новые возможности лечения людей, спасения жизней и научных исследований и экспериментов. С появлением первого коммерческого 3D-принтера для печати органов (в том числе таких важных как сердце, печень и почки) появился шанс не только лишь избавить пациентов от мучений и страданий, но и сбросить человеческие жизни [1].

В середине 1980-х годов впервые была разработана 3D-печать, которая представляла из себя достаточно габаритную конструкцию. Изначально принтер применялся в промышленном масштабе, например, для быстрого производства продукции, конструкций и деталей. Первые 3D-принтеры обладали невысокой продуктивностью, так как имели незначительную мощность и маленькую скорость, а при повышении скорости – продукты получались с большими ошибками. В последние годы интерес к 3D-принтерам стал возрастать в геометрической прогрессии. Технологии 3D-печати развиваются с космической скоростью и теперь с успехом применяются в медицине [2].

Существует три самых известных варианта развития технологии биопечати.

Суть каркасной технологии в необходимости возвращивания живых клеток на неорганической основе, исчезающей с развитием естественных связей между клетками. С этой целью каркас из неорганики засеивают клетками и по итогу получают готовый орган. Для создания каркасов используют разнообразные искусственные материалы. Достаточно трудоёмко заполучить необходимый материал, который по свойствам достаточно похож на замещаемый орган – это основная и главная каркасной технологии печати [3].

Бескаркасная технология – менее распространённый метод тканевой инженерии. В качестве главного элемента в бескаркасной технологии биопечати как основа используется гидрогель или коллаген. Используемый полимер быстро деградирует и в итоге остаётся только клеточный материал [4]. Именно такие материалы используются для каркасов, которые легко деградируют в живом организме. Первоначально вставляется каркас из

неограники с размещёнными клетками, а затем каркас «растворяется», и его функции берут на себя сами клетки уже подростшего органа. Такая печать применяется намного реже, чем каркасная.

Мимикрия – самый современный метод тканевой инженерии (трёхмерная печать органов). На этом уровне есть возможность создания целых копий органов. Печать органов происходит слой за слоем в аддитивном принтере за счет использования живых клеток [5]. Существует печать на повреждённой коже при помощи робота-манипулятора непосредственно в операционной. С помощью этого метода в лабораториях на сегодняшний день успешно печатают кожу, хрящевую ткань, также трубчатые полуорганы, такие как сосуды, мочеточник, уретра, желудок, кишечник и т.д. [6].

Процесс 3D-биопечати осуществляется в три этапа.

Первый этап – предпроцессинг, в котором используют компьютерную томографию. Чтобы напечатать орган, необходима его цифровая модель, то есть живой орган сканируют и создают копию со всеми уникальными особенностями.

Второй этап – сама биопечать или процессинг. Необходимы реальные живые клетки и чернила, где эти клетки будут существовать. При этом важно, что бы во время печати чернила должны быть жидкими, но сразу после печати держать форму. Для этого используют гидрогели и коллаген. На этом этапе орган не считается полностью готовым, это лишь конструкция [7].

Для завершения необходим третий этап, созревание или постпроцессинг. Клетки, которые находятся внутри коллагена, начинают взаимодействовать и сливаться между собой. Если технология была выполнена безошибочно и по механическим свойствам, и по функционалу, то эти клетки становятся похожи на реальные ткани. Чтобы печать прошла успешно, необходимо соблюдать некоторые условия. Прежде всего, физиологический раствор должен иметь определенную температуру, обеспечивающую выращивание самих клеток для печати. Выращивание длится примерно 1,5 недели. Далее орган необходимо дорастивать в биореакторе, в котором происходит созревание органа. Готовый орган можно пересаживать человеку [8].

На сегодняшний день 3D-биопечать с успехом применяется в регенеративной медицине для трансплантации необходимых тканей и органов. При помощи технологий биопечати, создавая работоспособные органы, появился шанс избавлять пациентов от страданий и спасать человеческие жизни. Таким образом, 3D-биопечать играет важную роль в медицине и является перспективным направлением.

### **Список использованной литературы**

1. Лысыч М.Н. Области применения технологий 3D печати / М.Н. Лысыч, М.Л. Шабанов, В.В. Романов // Современные наукоемкие технологии. Выпуск 1, 2014. –165-169 с.

2. Морозевич Е.С. 3D-печать: что ждет нас в будущем? / Е.С. Морозевич, А.П. Багаева. – Красноярск. Изд-во СибГАУ им. М.Ф. Решетнева, 2014. – 374-376 с.
3. Мигущенко Р.П. Перспективность FDM технологий в 3D печати / Р. П. Мигущенко, М. И. Опрышкина, К. Ю. Куштым // Вестник НТУ «ХПИ», Серия: Новые решения в современных технологиях. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2016. – 148-152 с.
4. Беликова К.М. — Биопринтинг и выращивание натуральных тканей и органов в странах БРИКС / К.М. Беликова. – М: Юрайт, 2019 г. – 235 с.
5. Шванн Т. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Т.Шванн, Р. Шмид. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2014. – 318 с.
6. Вечканов Е.М. Основы клеточной инженерии / Е.М. Вечканов, И.А. Сорокина. – Ростов н /Д: ЮФУ, 2012. – 27 с.
7. Буйнов М.А. Роботические технологии в медицине и биопринтинге: состояние проблемы и современные тенденции / М.А. Буйнов, А.А. Воротников Д. Д. Климов [и др.] // Вестник МГТУ «Станкин», 2017. – Т. 1, № 40. – 127–131 с.
8. Миронов В.А. Устройство и способы печати биологических тканей и органов / В. А. Миронов, Ю. Д. Хесуани, А. Н. Митряшкин. – Мн: БГУ, 2006. – 57 с.

*Крылов П.А., Лызо Т.С.,  
Корчагина А.А., Новочадов В.В.*

### **МОРФОЛОГИЯ ХОНДРОЦИТОВ СУСТАВНОГО ХРЯЩА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ЛУБРИКАТИВНЫХ СВОЙСТВ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ**

Остеоартроз (ОА) в настоящее время является лидирующим в списке распространённых заболеваний опорно-двигательного аппарата, вызванных различными нарушениями [6]. Восстановление хрящевой ткани суставного хряща зависит от лубрикативных (смазывающих) свойств синовиальной жидкости (СЖ), а также наличием специфического белка – лубрицина на суставной поверхности [5]. В данный момент времени в клиническую практику внедрен метод внутрисуставного введения веществ, способствующих повышению лубрикативных свойств СЖ, за счет чего снижается повреждающее воздействие на суставной хрящ [3]. В настоящей работе уделяется внимание сурфактант-ассоциированным белкам, способными повышать лубрикативные свойства СЖ, на основании чего мы предположили, что данные белки можно использовать в качестве хондропротектора [2].

Целью работы стало изучение влияния внутрисуставного введения сурфактант-ассоциированных белков на морфологию хондроцитов поверхностной зоны суставного хряща при экспериментальном остеоартрозе у крыс.

Образцы суставного хряща были взяты у 18 белых крыс самцов линии Wistar (36 суставов), массой 150–250 г. Моделирование остеоартроза осуществляли путем внутрисуставного введения суспензии медицинского талька [1]. В другой группе моделировали ОА, после чего на 3-й неделе внутрисуставно вводили сурфактант-ассоциированные белки, растворенные в физиологическом растворе в объеме по 0,1 мл [4], в концентрации 10 мг/мл. В каждой группе было по 3 животных, животных выводили через 3, 6 и 12 недель соответственно

Срезы окрашивали гематоксилином и эозином для выявления структурных особенностей хондроцитов. Определяли ядерно-цитоплазматическое соотношение (безразмерная величина) (ЯЦС) и численную плотность хондроцитов в поверхностной зоне ( $1/\text{мм}^3$ ). Количественные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 12.0 (Stat Soft Inc., США). Для доказательства достоверности различий применен непараметрический критерий Манна-Уитни для множественных групп ( $p < 0,05$ ).

Результаты морфометрии хондроцитов представлены в таблице, до и после изменения лубрикативных свойств синовиальной жидкости при моделировании экспериментального ОА.

Морфометрия хондроцитов показала, что при моделировании ОА на 3-й неделе эксперимента численная плотность хондроцитов уменьшилась почти в 1.5 раза по сравнению с интактной группой. На 6-ой неделе данный показатель снизился в 2 раза по сравнению с экспериментальной группой на 3-й неделе, и в 3 раза по сравнению с интактной. К 12-ой неделе показатель численной плотности хондроцитов достиг минимального значения и составил  $175 1/\text{мм}^3$ . После внутрисуставного введения сурфактант-ассоциированных белков экспериментальной группе с ОА на 3-й неделе, к 6-ой и 12-ой неделе показатель численной плотности хондроцитов оставался на одном уровне.

Таблица

Морфология хондроцитов поверхностной зоны суставного хряща при экспериментальном ОА и после введения сурфактант-ассоциированных белков

Показатель	Интактные животные	Сроки эксперимента				
		3 недели		6 недель		12 недель
		ОА	ОА	ОАЛ	ОА	ОАЛ
Численная плотность хондроцитов, $1/\text{мм}^3$	610 [549 ÷ 776]	430*# [337 ÷ 596]	238*# [178 ÷ 357]	446* [417 ÷ 516]	175*# [133 ÷ 265]	465* [377 ÷ 545]
ЯЦС, б/в	0,28* [0,15 ÷ 0,43]	0,16*# [0,09 ÷ 0,21]	0,11* [0,06 ÷ 0,17]	0,14* [0,10 ÷ 0,19]	0,09*# [0,05 ÷ 0,11]	0,12* [0,4 ÷ 0,14]

\* – достоверные статистические значимые различия по отношению к интактной группе, # - достоверные статистические значимые различия между экспериментальными группами.

Ядерно-цитоплазматическое соотношение на 3-й неделе после моделирования экспериментального ОА снизилось в 2 раза, и продолжало снижаться к 12 неделе и составило 0,09 что в 3 раза меньше по сравнению с интактной группой. Введение сурфактант-ассоциированных белков не оказало влияние (статистически-значимых различий при  $p < 0,05$ ), и было на одном уровне.

В итоге можно сказать, что внутрисуставное введение талька приводит к снижению численной плотности хондроцитов в каждой зоне суставного хряща и в значительной степени в поверхностной [1]. Введение сурфактант-ассоциированных белков при экспериментальном остеоартрозе показало, что численная плотность остается на одном уровне и не снижается, что позволяет нам с уверенностью говорить, о том, что сурфактант-ассоциированные белки могут быть использованы в качестве хондропротектора. Влияния на ядерно-цитоплазматическое соотношение введение сурфактант-ассоциированных белков не оказало, это может быть связано с тем, что при интенсивном стирании суставных поверхностей поверхностная зона очень быстро разрушается, вызывая гибель хондроцитов.

Таким образом, после внутрисуставного введения талька происходит снижение численной плотности хондроцитов поверхностной зоны, сопровождающиеся уменьшением ядерно-цитоплазматического соотношения, что свидетельствует о пикнозе ядер хондроцитов или их гипертрофии. В результате введения сурфактант-ассоциированных белков в роли хондропротекторов на фоне экспериментального ОА зафиксировано сохранение численной плотности хондроцитов поверхностной зоны. Полученные данные в дальнейшем можно будет использовать для разработки хондропротекторов на основе сурфактант-ассоциированных белков.

### **Список использованной литературы**

1. Котельников Г. П. Сравнительная оценка структурных изменений тканей сустава при различных моделях экспериментального артроза / Г.П. Котельников, Ю.В. Ларцев, А.Н. Махова // Казанский медицинский журнал, 2006. – № 1. – С. 31–35
2. А.П. Крылов. Морфология суставного хряща при экспериментальном остеоартрозе при коррекции состава синовиальной жидкости сурфактант-ассоциированными белками / П.А. Крылов, К.В. Байдова, Н.В. Емельянов, В.В. Новочадов // Клиническая и экспериментальная морфология, 2017. № 3 (23). – С. 50-55.
3. Хитров Н.А. Современные возможности имплантатов синовиальной жидкости при остеоартрозе / Н.А. Хитров // Русский медицинский журнал, 2014. – Т. 22. – № 7. – С. 499–502.

4. Novochadov V.V., Krylov P.A. Production technology and physicochemical properties of composition containing surfactant proteins. Eur. J. of Mol. Biotech. 2016; 2(12): 77–84.
5. Szychlinska M.A., Trovato F.M., Di Rosa M., Malaguarnera L., et al. Co-expression and co-localization of cartilage glycoproteins CHI3L1 and lubricin in osteoarthritic cartilage: morphological, immunohistochemical and gene expression profiles. Int. J. Mol. Sci. 2016; 17(3): 359.
6. Tiku M.L., Sabaawy H.E. Cartilage regeneration for treatment of osteoarthritis: a paradigm for nonsurgical intervention. Ther. Adv. Musculoskelet Dis. 2015; 7(3): 76–87.

*Макарова Е.Л.*

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ ОТХОДОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

Знание механизмов регуляции активности ферментов, изучение конформационных изменений белковых структур в результате взаимодействия с другими белками открывают путь к направленной модификации белков. Одной из отраслей биотехнологии является инженерная энзимология, которая изучает высокоэффективные ферментные препараты с заданными свойствами. Получение стабильных иммобилизованных препаратов вносит важный вклад в пищевую, фармацевтическую промышленности, для создания новых высокоэффективных методов лечения.

В медицине иммобилизованные препараты открыли путь к созданию лекарственных препаратов пролонгированного действия со сниженной токсичностью, а также решают проблему направленного транспорта лекарств в организме. В процессе создания иммобилизованных препаратов важен выбор пути иммобилизации и материала носителей, которые могут быть как неорганическими, так и органического происхождения, полисахаридные, липидные, белковые.

В последнее время актуальность приобретают исследования по использованию белков в качестве носителей для ферментов. Энзимы функционируют в клетке, контактируя с липидами, белками, поэтому считают, что изучение иммобилизованных ферментов позволит изучить закономерности катализа ферментов *in vivo*. Часто в качестве носителей используют структурные белки, такие как коллаген. Коллаген – фибриллярный белок соединительной ткани, входит в состав хрящей, сухожилий, обладает особой прочностью, биосовместимостью. В настоящее время широко развивается направление с использованием коллагенсодержащих отходов для получения материалов для применения в медицине, ветеринарии.

Новые исследования по использованию коллагенсодержащего сырья представляют интерес и перспективу создания безотходных экологически чистых технологий, кроме того рациональное использование данного сырья сократит себестоимость полученных препаратов.

Коллаген, входящий в структуру практически всех тканей животных организмов, в промышленных предприятиях используется как важнейший компонент вторичной переработки сельскохозяйственных животных. Основная технология получения коллагеновых продуктов основана на ферментной модификации компонентов соединительной ткани [1].

В связи с выше изложенным в нашей работе в качестве носителя фармацевтических препаратов был использован коллаген, выделенный из соединительной ткани крупного рогатого скота, на кафедре технологии продуктов животного происхождения Воронежского государственного университета инженерных технологий. Нами была осуществлена иммобилизация глюкоамилазы ( $\alpha$ -1,4:1,6-глюкан-4,6-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.3) на коллагене, выделенном из соединительной ткани крупного рогатого скота. В качестве субстрата использовали растворимый картофельный крахмал

Ферментом для иммобилизации послужил коммерческий препарат из *Aspergillus awamori*, препарат Г20Х производства Ладыжинского завода ферментных препаратов, подвергнутый специальным методом очистки.

Активность глюкоамилазы определяли глюкозооксидазным методом, принцип которого заключается в том, что кислород воздуха окисляет глюкозу при каталитическом действии глюкозооксидазы с образованием глюконата и перекиси водорода, определяемую по реакции окислительного азосочетания с замещенным фенолом и 4-аминоантипирином, которая катализируется пероксидазой.

Расчет каталитической активности производили по формуле:

$$A = \frac{a}{b \times 180 \times 10},$$

где  $a$  - количество глюкозы, образовавшейся в 1 мл гидролизата, мкг;

$b$  - количество фермента в 1 мл гидролизата, мг/мл;

$t$  - время гидролиза, мин;

180 - молекулярная масса глюкозы.

Для осуществления сорбционной иммобилизации 5 г коллагена оставляли на ночь при комнатной температуре в 25,6 мл ацетатного буфера (рН 4,5). 5 мл раствора фермента ( $10^{-5}$  моль/л) добавляли к суспензии носителя и перемешивали в колбе с помощью электрической мешалки в течение 1,5 часа при температуре 25°C. Центрифугировали при 3000 об/мин 5 мин, осадок промывали ацетатным буфером (рН 4,5), затем дистиллированной водой до отсутствия в промывных водах белка (контроль осуществляли на СФ-26 при  $\lambda=280$  нм). Содержание белка в иммобилизованном ферменте определяли модифицированным методом Лоури, а каталитическую активность – глюкозооксидазным методом, причем

инкубацию иммобилизованного фермента с субстратом осуществляли при перемешивании с помощью магнитной мешалки в течение 30 минут.

Нами была проведена иммобилизация глюкоамилазы на коллагене. Каталитическая активность фермента составила 67% каталитической активности свободного энзима. Глюкоамилаза, иммобилизованная на коллагене, по сравнению с нативным ферментом более стабильна к воздействию внешних факторов. Исследования показали, что иммобилизованный фермент проявляет максимальную каталитическую активность при температуре 55 °С, что на 5 °С выше, чем для свободного энзима. При иммобилизации глюкоамилазы на коллагене наблюдается расширение диапазона значений рН, при которых имеет место максимальная каталитическая активность [2].

Применение коллагена в качестве носителя ферментативных препаратов является перспективным для дальнейших исследований с целью разработки оптимальных условий получения высокоактивных препаратов пролонгированного действия. Использование коллагена из вторичного сырья позволяет создавать иммобилизованные препараты экономически более выгодные с улучшенными свойствами.

#### **Список использованной литературы**

1. Антипова Л.В. Использование вторичного коллагенсодержащего сырья мясной промышленности / Л.В. Антипова, И.А. Глотова. – СПб: ГИОРД, 2006. – 384 с.
2. Макарова Е.Л. Разработка биотехнологических способов переработки отходов с целью создания иммобилизованных препаратов / Е.Л. Макарова, Т.А. Ковалева, И.В. Петракова. – Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии, 2013. – С. 33-34.

*Толстикова Е.А., Толстиков Н.А.*

### **ИЗУЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА ПЕЧЕНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОГО СОСТОЯНИЯ ГРАФТА**

К категории доноров с расширенными критериями оценки относятся: доноры старше 60 лет, с индексом массы тела более 27, наличием крупнокапельного стеатоза свыше 15%; доноры с нестабильной гемодинамикой, пребывавшие на искусственной вентиляции легких более 5 суток, с высокой концентрацией сывороточного Na (165 ммоль/л).

Дисфункция печени первые 7–10 дней после трансплантации – достаточно распространенное явление и имеет многочисленные причины. Из них наиболее существенными оказываются крупнокапельный стеатоз, а также развившиеся в ближайшем послеоперационном периоде отторжение трансплантата, исходное состояние реципиента и хирургические осложнения, касающиеся кровеносных сосудов и системы желчевыделения.

В 1993 г. T. Starzl et al. опубликовали наблюдение 6 реципиентов печени,

которые не были привержены к иммуносупрессивной терапии и самостоятельно прекратили прием препаратов. У этих реципиентов в течение 5–13 лет наблюдения сохранялась нормальная функция трансплантата. Такое состояние при отсутствии гистологических признаков прогрессирующего повреждения трансплантата и/или отторжения назвали операционной толерантностью. Толерантность представляет собой специфическую реакцию организма, при которой иммунная система не отвечает на чужеродные антигены развитием иммунного ответа. При отсутствии ответа на данный антиген сохраняется способность организма отвечать на другой. Наблюдения пациентов, у которых имеет место спонтанная операционная толерантность, не выявили повышенного риска инфекций или злокачественных новообразований, и их реакция на вакцинацию аналогична таковой у здорового населения.

Описанные T. Starzl et al. наблюдения убедительно показали возможность развития стойкой толерантности у реципиентов печени, но при этом возникла необходимость в надежных диагностических маркерах, которые могли бы послужить достаточным основанием для отказа от дальнейшего проведения иммуносупрессивной терапии.

В период с января 2017 г. по февраль 2021 г. в одном центре – хирургическое отделение ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница» выполнены 9 ОТП от посмертных и близкородственных доноров. Также курировались 20 пациентов, которым трансплантация была выполнена в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им.А.И.Бурназяна ФМБА России.

Различают несколько категорий доноров.

В качестве обязательных критериев стандартного донора (СД) печени нами приняты следующие:

- возраст не более 50 лет;
- длительность пребывания в ОРИТ и на ИВЛ не более 5 суток;
- отсутствие асистолии и/или гипотензии ниже 80/60 мм рт.ст. на протяжении более 2 ч;
- инотропная поддержка допамином не более 10 мкг/кг/мин;
- вазопрессорная поддержка норадреналином не более 500 нг/кг/мин;
- нормальные показатели общего билирубина (не более 20 мкмоль/л), АСТ и АЛТ (не более 40 Ед/л);
- уровень натрия плазмы крови не более 155 ммоль/л;
- инструментальная (УЗИ) и визуальная оценка стеатоза не более 30%;
- время холодной ишемии трансплантата не более 6 ч.

Из 20 трансплантатов печени от оптимальных доноров были получены 15 (75%), а от доноров с расширенными критериями оценки – 5 (25%).

В оптимальную группу вошли те доноры, у которых после констатации смерти мозга переменные (содержание в крови ферментов, электролитов и др.) и постоянные (возраст, наличие гепатозов и др.) признаки соответствовали допустимому уровню, а в группе с расширенными критериями оценки (маргинальные доноры) эти показатели превышали

допустимые. Средний возраст доноров составил  $40 \pm 7$  лет. При изъятии печени для ее консервации использовали охлажденный консервирующий раствор – кустодиол в объеме 300 мл/кг массы тела. Любые осложнения у реципиента – тромбозы артерий или вен печени – были зарегистрированы как потенциальные факторы паренхиматозных повреждений и исключены из исследования.

После первого сообщения T. Starzl et al. (1993) было опубликовано несколько ретроспективных исследований, подтверждающих, что в ряде случаев полная отмена ИС у реципиентов печени не приводит к развитию отторжения. Частота эпизодов острого клеточного отторжения (ОКО) составляла 12–76%. Но сами эпизоды ОКО в большинстве случаев протекали легко и разрешались путем возврата к исходной ИС без введения стероидных болюсов. Случаи развития хронического отторжения наблюдались редко (0–6%), а потеря трансплантата носила казуистический характер. Считается, что возможность достижения операционной толерантности при трансплантации печени составляет около 20%.

Известно, что наличие у реципиента антител против человеческих лейкоцитарных антигенов донора органа (донор-специфические антитела) является фактором риска развития отторжения трансплантата. Гуморальное отторжение, связанное с продукцией донор-специфических антител особенно важное значение имеет при трансплантации почки. Отмечено влияние антител к HLA (человеческий лейкоцитарный антиген) на исход трансплантации сердца и легких. При трансплантации печени донор-специфические антитела не имеют такого важного значения, что связано, прежде всего, с особенностями метаболизма иммуноглобулинов. Но в то же время при отмене ИС мониторинг донор-специфических антител у реципиентов печени может иметь критическое значение для своевременного выявления риска отторжения.

Исследования группы A. Sanchez-Fueyo из Барселоны показывают, что операционную толерантность печени можно прогнозировать с использованием молекулярных биомаркеров. Профиль экспрессируемых генов, указывающих на толерантность, идентифицирован в крови функционально толерантных реципиентов и соответствующего контроля. Преимущественно это гены, кодирующие гамма-дельта-клетки и НК-клетки. Результаты исследования были подтверждены на образцах, собранных до начала отмены ИС в испытании RISE Consortium.

Из всех пациентов случаи дисфункции трансплантата печени в раннем послеоперационном периоде были зафиксированы у 14 больных (70%): 5 на фоне недостаточной иммуносупрессии, 5 – стриктур билиарного анастомоза, 2 – инфицирования гепатотропными вирусами (ВЭБ, ЦМВ), 1 – стриктуры печеночной артерии, 1 – частичного тромбоза воротной вены. Был диагностирован один случай острого клеточного отторжения (5%), купированный пульс терапией метилпреднизолоном.

Все пять случаев пересадки печени от доноров с расширенными

критериями были сочетаны с ранней дисфункцией трансплантата.

Повторные эпизоды развития дисфункции трансплантата печени в первые 6 месяцев были зафиксированы в 6 случаях. И связаны с реактивацией первичного заболевания в трансплантате – 2 случая (аутоиммунный гепатит, первичный склерозирующий холангит), с недостаточной иммуносупрессией – 1 (нарушение комплаенса пациентом), с поражением гепатотропными вирусами – 3 (ЦМВ, ВЭБ). У пациентов, получивших трансплантат от доноров с расширенными критериями повторная дисфункция выявлена в 1 наблюдении.

Таким образом, можно сделать вывод о сопряженности случаев трансплантации от доноров с расширенными критериями со случаями ранней дисфункции трансплантата. Однако, сопряженность с повторным развитием, по данным нашего наблюдения, отсутствует.

### **Список использованной литературы**

1. Хубутя М.Ш. Успешная трансплантация печени пациенту в критическом состоянии / М.Ш. Хубутя, С.В. Журавель, Н.К. Кузнецова, И.В. Александрова, 2019.
2. Pathogenesis of early operative site infections after orthtopic liver transpalntation – P.M. Arnow, K.C. Zachary, J.R. Thistlethwaite, 2018.
3. The difficulty in defining extended donor criteria for liver grafts – G.R. Silberhumer, A. Rahmel, V. Karam, 2013.

*Тукан К.А., Голоенко И.М., Обьедков В.Г.,  
Горгун О.В., Шимкевич А.М.*

### **ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА С677Т (rs1801133) ГЕНА МТНFR В РАЗВИТИИ ЭКСТРАПИРАМИДНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ НЕЙРОЛЕПТИКАМИ**

Основная проблема, осложняющая медикаментозное лечение шизофрении, – возникновение нежелательных лекарственных реакций, патогенетически связанных с экстрапирамидной системой головного мозга. Продукт гена МТНFR, метилентетрагидрофолатредуктаза, является одним из возможных генов, связанных с шизофренией [1]. Ген СОМТ является основным ферментом, принимающим участие в катаболизме дофамина и в целом катехоловых субстратов. Оба гена (МТНFR и СОМТ) участвуют в метилировании генома. Целью данной работы является оценка роли генов МТНFR и СОМТ в формировании риска моторных нарушений, вызванных антипсихотиками.

Задачей данной работы является установление комплексных генотипов риска развития антипсихотик-индуцированных двигательных осложнений.

В исследовании принимали участие 272 человека, страдающие шизофренией и принимающие антипсихотическую терапию (с паркинсонизмом – 97 человек, с акатизией – 99 человек). Образцы

буккального эпителия и оценка степени осложнения по шкале ESRS-A (Extrapyramidal Symptom Rating Scale; 2 балла и более) были предоставлены РНПЦ Психического Здоровья.

Генотипирование по локусу *rs1801133* проведено методом RT-PCR. Статистический анализ данных осуществлен с помощью программы SPSS Statistics 19.0. Достоверность результатов исследования оценивали на основании критерия  $\chi^2$ , значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

Среди всей выборки по локусу *rs1801133* с доминантной гомозиготой СС было выявлено 135 человек (49,6%), с доминантной гетерозиготой СТ выявлено 111 человек (40,8%), с рецессивной гомозиготой ТТ выявлено 26 человек (9,6%).

При этом, частота встречаемости доминантной гомозиготы СС в выборке пациентов с отсутствием паркинсонизма (контрольная выборка) ниже (48,0%), чем в выборке с легкой формой паркинсонизма (56,30%), а также ниже, чем в выборке с тяжелой формой паркинсонизма (59,10%). Однако статистическая обработка данных не подтвердила достоверность связи генотипа ТТ с риском развития антипсихотик-индуцированного паркинсонизма ( $\chi^2=4,156$   $p=0,843$ ). Также не была подтверждена выдвинутая нами гипотеза о связи генотипа СС со снижением риска развития антипсихотик-индуцированной акатизии ( $\chi^2=7,344$   $p=0,693$ ).

Мы провели дальнейший анализ по двум полиморфным локусам *rs1801133* гена *MTHFR* и *rs4680* гена *COMT* (катехол-О-метилтрансфераза), ранее изучавшегося нами, в зависимости от пола пациентов. Оба гена (*MTHFR* и *COMT*) задействованы в процессах метилирования генома.

Анализ распределение частот в общей выборке женщин больных шизофренией с и без экстрапирамидных осложнений позволил обнаружить достоверную связь сочетания генотипов СТ по гену *MTHFR* и LL по гену *COMT* с общим риском развития нежелательных лекарственных реакций в виде двигательных осложнений ( $\chi^2=8,91$   $p=0,012$ ).

Кроме того, сравнение распределения частот в группах женщин больных шизофренией с и без акатизии обнаружило достоверную связь сочетания генотипов ТТ+НЛ ( $\chi^2=6,00$   $p=0,05$ ) и СТ+LL ( $\chi^2=6,11$   $p=0,045$ ) с риском развития данного осложнения. Согласно литературным данным, ген *COMT* может являться одним из ауtosомальных генетических факторов, связанных с различиями в патофизиологии шизофрении между мужчинами и женщинами. Полученные нами данные подтверждают эту гипотезу.

Таким образом, нами установлены комплексные генотипы риска развития антипсихотик-индуцированных двигательных осложнений и, в частности, акатизии, для пациентов женского пола, страдающих шизофренией.

#### Список использованной литературы

1. Effects of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism on executive function in schizophrenia / J.L. Roffman [et al.] // Schizophr. Res. – 2007. – Vol. 92, № 1. – P. 181-188.

*Тумоян Дж.Г, Казарян Ш.А, Оганесян А.А*  
**ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ  
ЭКСТРАКТОМ *O. araratum* БИОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ  
СЕРЕБРА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕЧЕНИ  
БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ КРЫС WISTAR**

В настоящее время достижения и нарастающие темпы развития нанотехнологий позволяют использовать наночастицы серебра (НЧ Ag) в самых различных отраслях медицины, фармацевтик и т.д. [1]. В последние годы значительно повысился интерес к НЧ Ag, которые по сравнению с серебром в обычном физико-химическом состоянии отличается более выраженной биологической активностью. Помимо того, что НЧ Ag являются наиболее широко применяемыми в промышленности НЧ, благодаря их выраженным антимикробным действиям, всё больше расширяются области их применения [2]. Механизм действия наночастиц на живые организмы, лежащий в основе их биологических и патологических эффектов, можно раскрыть, изучая их токсичность [3]. Учитывая такое широкое применение НЧ Ag, актуальным становится вопрос изучения воздействия НЧ на организм животных и человека.

Целью данной работы была исследование кратковременного влияния биогенных НЧ Ag, стабилизированных в 50% этанольном экстракте *O.araratum* на биохимические маркеры функционирования печени белых беспородных крыс Wistar при краткосрочном воздействии.

Биогенные НЧ Ag были получены путем добавления раствора соли Ag<sup>+</sup> к 50% этанольному экстракту *O.araratum*. После синтеза, биогенные НЧ Ag были несколько раз промыты и дополнительно стабилизированы в 50% этанольном экстракте *O.araratum*. Размеры и форма НЧ были исследованы с помощью SEM (SEMLEO-1430 VP, Carl Zeiss, Германия).

Исследование кратковременного воздействия НЧ Ag стабилизированных в 50% этанольном экстракте *O.araratum* проводилось на самцах белых беспородных крыс Wistar. Все манипуляции проводились с принципами лабораторного ухода за животными в Комитете по этике Ереванского государственного медицинского университета (Ереван, Армения) и в соответствии с решением 22 сентября 2010 года Советом европейских сообществ (2010/63/EU). Животные были разделены на 3 экспериментальные группы по 3-4 особи в каждой, животным на протяжении через день 2 недель и/п вводили: 50% этанольный экстракт *O.araratum*, биогенные НЧ Ag стабилизированные в 50% этанольном экстракте *O.araratum*. В качестве контроля использовались интактные животные. После завершения экспериментального периода животных выводили из опыта под легким эфирным наркозом.

Для проведения дальнейших биохимических анализов был произведен забор крови из воротной вены в вакутайнеры с антикоагулянтом Na<sub>2</sub>ЭДТА. Оценка спектра воздействия проводилась определением биохимических

маркеров функционирования печени (общий белок, альбумин, глюкоза, общий холестерин, ЛПВП, ЛПНП, АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ) в крови экспериментальных животных. Определение биохимических маркеров осуществлялось по общепринятым протоколам с помощью стандартных наборов реактивов BioSystems (Barcelona, Spain). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы MicrosoftOffice Excel.

**Результаты и заключения.** Синтез НЧ с использованием растений очень рентабелен и поэтому может быть использован как экономичная и ценная альтернатива в крупномасштабном производстве НЧ. При этом экстракты различных растений используются в качестве восстанавливающих и стабилизирующих агентов в процессе биогенного синтеза НЧ.

Для синтеза НЧ Ag нами был выбран экстракт с наиболее выраженной АРА, а результаты данного исследования приведены в статье [4], где показано, что наиболее высокую АРА, среди исследованных нами образцов имеет 50% этанольный экстракт *O.araratum*, ( $IC_{50}=0,26\pm0,04$  мг/мл). С помощью данного экстракта были синтезированы НЧ АРА сферической формы, размер которых составлял от 6 до 18 нм в диаметре (Рис.).

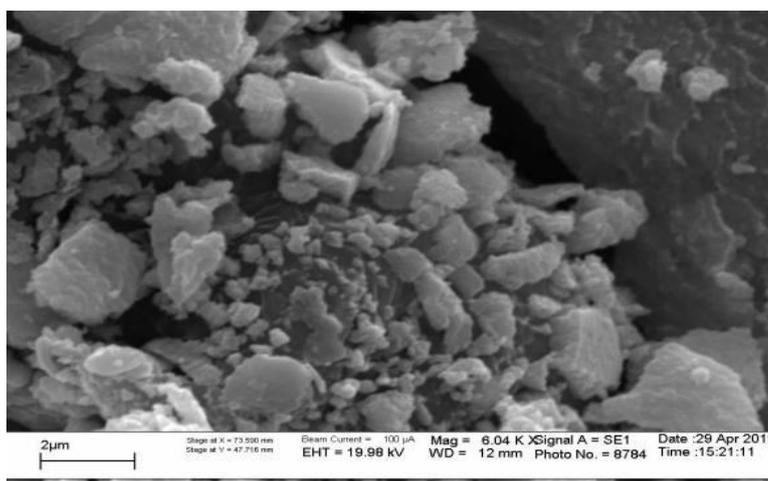


Рисунок. СЭМ изображение биогенных НЧ Ag, стабилизированных в 50% этанольном экстракте *O. araratum*.

Анализ биохимических параметров в плазме крови интактных животных выявил, что в норме содержание альбумина составляет  $29,33\pm1,3$  г/л, общего белка -  $45,23\pm1,43$  г/л, глюкозы -  $12,3\pm1,32$  ммоль/л. Анализ липидного профиля выявил содержание общего холестерина  $2,87\pm0,61$  ммоль/л, ЛПНП -  $2,07\pm0,22$  ммоль/л, а ЛПВП -  $0,8\pm0,09$  ммоль/л. При это в норме активность АЛТ была  $10,6\pm0,7$  Ед/л, АСТ -  $5,3\pm0,3$  Ед/л, ЩФ -  $14,7\pm0,17$  Ед/л, а ЛДГ -  $(39,12\pm2,69$  Ед/л. Анализ биохимических параметров в плазме крови экспериментальных животных показал, что экстракт *O.araratum* приводит к увеличению содержания общего белка ( $65,48\pm3,7$  г/л) и альбумина ( $33,8\pm3,3$  г/л), а также обладает гипергликемическим свойством ( $15,1\pm0,6$  ммоль/л). Как и следовало предполагать, экстракт *O.araratum* приводит к понижению содержания общего холестерина ( $1,2\pm0,2$  ммоль/л), а

также ЛПВП ( $0,7 \pm 0,17$  ммоль/л) и ЛПНП ( $0,5 \pm 0,03$  ммоль/л) по сравнению с интактным контролем. Наряду с вышеупомянутыми проявлениями, выявлено значительное увеличение активностей таких маркеров, как АЛТ ( $124,9 \pm 4,06$  МЕ/л), АСТ ( $62,8 \pm 3,3$  МЕ/л), ЛДГ ( $166,3 \pm 6,2$  Ед/л) и ЩФ ( $109,3 \pm 3,8$  Ед/л). Однако в отличие от первой экстракта, стабилизированные биогенные НЧ Ag приводили к нормализации общего холестерина ( $1,4 \pm 0,36$  ммоль/л) за счет снижения ЛПНП ( $0,53 \pm 0,01$  ммоль/л) и повышения ЛПВП ( $0,87 \pm 0,38$  ммоль/л). Также наблюдается понижение активностей АСТ ( $26,7 \pm 3,9$  МЕ/л), ЛДГ ( $51,2 \pm 1,8$  Ед/л), уменьшение содержания общего белка ( $60,2 \pm 1,15$  г/л). Однако в содержании альбумина ( $35,3 \pm 1,9$  г/л) и глюкозы ( $14,89 \pm 1,2$  ммоль/л) значимых изменений не наблюдалось. Так же, в данной группе экспериментов не были выявлены значимые изменения в активности АЛТ ( $127,4 \pm 4,6$  МЕ/л) и ЩФ ( $114,8 \pm 1,8$  Ед/л).

Таким образом, можно утверждать, что биогенные НЧ Ag стабилизированные в 50% этанольном экстракте *O.araratum* при кратковременном воздействии приводят к повышению активности прямых маркеров повреждения печеночной ткани. Однако для понимания природы данных повреждений необходимы дальнейшие исследования.

Работа была выполнена в рамках базового финансирования Гос Комитета науки РА (№10-2/I-1).

#### Список использованной литературы

1. Станишевская И.Е. Наночастицы серебра: получение и применение в медицинских целях / Разработка и регистрация лекарственных средств // И.Е. Станишевская, А.М. Стойнова, А.И. Марахова, Я.М. Станишевский 2016;(1):66-69.
2. Шамсутдинова И.Р. Особенности биологического действия наночастиц серебра в организме животных / И.Р.Шамсутдинова, М.А. Дерхо // Известия Оренбургского государственного аграрного университета, 2016.
3. Шамсутдинова И.Р.Изменения показателей крови лабораторных животных при введении наночастиц серебра / И.Р. Шамсутдинова, М.А. Дерхо // Известия Оренбургского государственного аграрного университета, 2015.
4. Казарян Ш.А. Антирадикальные и цитотоксические свойства экстрактов *Ocimum sanctum* и *Ocimum araratum* / Ш.А. Казарян // Вестник РАУ, 2017.

*Фарсиян Л.М., Креджян Э.А.,  
Арутюнян А.А., Оганесян А.А.*

#### ЗЕЛЕНЫЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ ЖЕЛЕЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКСТРАКТОВ *CAMELLIA SINENSIS*

В последние годы химический и физический методы синтеза наночастиц уступают свое место «зеленым» методам, так как наночастицы полученные этим методом более простые и экологически безопасные [1]. Для получения «зеленых» наночастиц могут быть использованы различные растительные экстракты. Показано, что экстракты зеленого чая содержат

высокую концентрацию кофеина/полифенолов, которые действуют как восстанавливающие и стабилизирующие агенты при синтезе наночастиц [2, 3].

Магнитные наночастицы (НЧ) оксида железа ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) обладают рядом уникальных характеристик: имеют ярко выраженные магнитные свойства, управляемы внешним магнитным полем, имеют дозозависимую токсичность и находят ряд применений в различных областях науки, технологии и медицины. Получение наночастиц оксида железа «зеленым» методом позволяет снизить их токсичность и повысить биосовместимость.

Целью настоящей работы являлось получение «зеленых» наночастиц оксидов железа, синтезированных с помощью водного и спиртового экстрактов Адыгейского зеленого байхового листового чая *C. sinénsis*, исследование антирадикальных свойств экстрактов и сравнение выхода наночастиц, полученных разными экстрактами.

Сухие листья *C. sinénsis* использовали для получения водных (холодная  $25^\circ\text{C}$  и горячая  $80^\circ\text{C}$  вода) и этанольных экстрактов [4]. Синтез НЧ оксидов железа проводили посредством экстрактов с добавлением раствора соли хлорида железа [5]. Антирадикальную активность (АРА) определяли методом тушения свободного радикала ДФПГ [6]. Исследование антибактериальной активности проводили диск-диффузионным методом [7]. Статистический анализ проводился посредством программы Microsoft Office Excel ( $p < 0.05$ ).

Из результатов исследования антирадикальной активности (АРА) экстрактов высушенных листьев Адыгейского зеленого байхового листового чая, видно, что все исследуемые экстракты обладают высокой антирадикальной активностью. В частности, сравнительный анализ результатов  $\text{IC}_{50}$ , показывает, что наибольшей АРА обладает этанольный экстракт *C. Sinénsis* –  $1.68 \pm 0.01$  мг/мл, а далее  $80^\circ\text{C}$  и  $25^\circ\text{C}$  водные экстракты –  $1.82 \pm 0.01$  и  $2.02 \pm 0.02$  мг/мл соответственно. За счет высокого антирадикального потенциала исследуемых экстрактов стало возможным проведение «зеленого» синтеза НЧ оксидов железа.

В результате «зеленого» синтеза образовался черный осадок, который обладает магнитными свойствами. Рентгеноструктурный анализ НЧ  $\text{Fe}_x\text{O}_y$  показал, что пики, ассоциированные с оксидами железа, соответствуют чистому  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Расширение пика ассоциировано с наноразмерностью фракции частиц (рис.1.а). Также приведены результаты СЭМ анализа исследуемых частиц (рис.1.б).

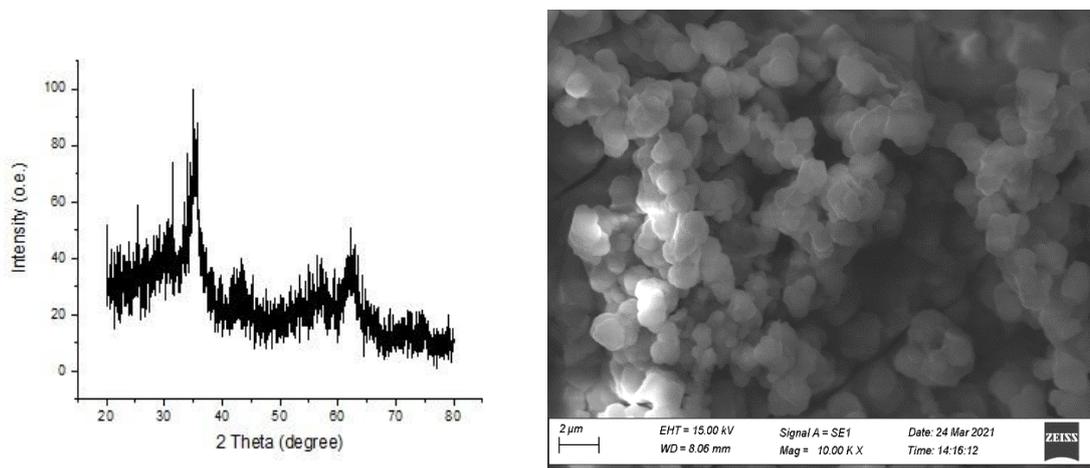


Рис.1. СЭМ <sup>а)</sup> изображение биогенных НЧ <sup>б)</sup> Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> стабилизированных в водном экстракте *C. sinénsis* (25°C)

Наибольшее количество НЧ было получено из водного (80°C) экстракта *C. sinénsis*, а именно 603±0,3 мг/г сухого веса. Выход НЧ из этанольного и водного (25°C) экстрактов составил 508±0,2 мг/г сухого веса и 484± 0,3 мг/г сухого веса, соответственно.

Цитотоксичность НЧ оценивали диск-диффузионным методом против штаммов грам-отрицательной *E. coli* DSM 1116 и грамм-положительной *S. aureus* MDC5233. Стабилизированные экстрактами НЧ Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> в концентрации 1мг/мл не обладали антибактериальной активностью против исследованных штаммов.

Таким образом, на основе полученных данных можно сказать, что выбранные нами экстракты обладают высокой АРА и могут быть использованы для синтеза и стабилизации НЧ оксидов железа (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>). К тому же, такой метод синтеза обеспечивает высокий выход магнитных НЧ. Полученные НЧ не проявляли антибактериальную активность по отношению к исследуемым штаммам, что делает их приемлемыми кандидатами для дальнейших исследований.

This work was made possible by a research grant from the Yervant Terzian Armenian National Science and Education Fund (ANSEF) based in New York, USA 20AN: NS-biotech 2329

### Список использованной литературы

1. Gottimukkala, K. S. V., Narika, R. P., Zamare, D. (2017). Green synthesis of iron nanoparticles using green tea leaves extract. *J. Nanomed. Biother. Discov*, 7, 151.
2. Платонова, Н. Б. Биохимический состав чая и его изменения под влиянием различных факторов / Н. Б. Платонова, О. Г. Белоус // Техника и технология пищевых производств, 2020. – 50(3), 404-414.

3. Huang, L., Weng, X., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2014). Green synthesis of iron nanoparticles by various tea extracts: comparative study of the reactivity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 130, 295-301.
4. Казарян Ш.А. Антирадикальные свойства этанольных экстрактов листьев *Prunella vulgaris L.* и *Ocimum basilicum L.* / Ш.А. Казарян, Л.Р. Рштуни, М.Л. Геворкян, А.Ж. Оганян, Г.Р. Вардапетян // Вестник РАУ, 2016. – 2. – 86-93.
5. Yew, Y. P., Shameli, K., Miyake, M., Kuwano, N., Khairudin, N. B. B. A., Mohamad, S. E. B., & Lee, K. X. (2016). Green synthesis of magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles using seaweed (*Chlorella vulgaris*) extract. *Nanoscale research letters*, 11(1), 1-7.
6. Chung, K.T., Chen, S.C., Wong, T.Y. and Wei, C.I., 1998. Effects of benzidine and benzidine analogues on growth of bacteria including *Azotobacter vinelandii*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 17(2), 271-275.
7. Vardapetyan H, Tiratsuyan S, Hovhannisyan A, Martirosyan A. (2012). Elucidation of DPPH radical scavenging, antibacterial and photodynamic activities of *Hypericum perforatum* extracts.

**Финогенов Т.А., Коломийцев И.Р.,  
Кузьменок Н.М., Леонтьев В.Н.**

### **СИНТЕЗ ЧЕТВЕРТИЧНОЙ АММОНИЙНОЙ СОЛИ НА ОСНОВЕ 1,4-ДИАЗАБИЦИКЛО[2.2.2]ОКТАНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО СРЕДСТВА**

Введение. Одной из актуальных проблем животноводства считаются инфекционные заболевания, возбудителями которых являются вирусы, в частности, болезнь Ньюкасла птиц. Данное заболевание характеризуется молниеносным течением болезни, при котором происходит падеж птиц без выраженных клинических признаков [1]. Как правило, острое и сверхострое течение недуга заканчивается 100%-ным летальным исходом. Цыплята, перенесшие болезнь Ньюкасла, отличаются отставанием в развитии, высокой смертностью при взрослении, что ведет к ухудшению качества сельскохозяйственной продукции [2]. В среднем, у взрослых кур процент гибели составляет порядка 15–30%.

Болезнь Ньюкасла вызвана РНК-вирусами из семейства *Paramyxoviridae*, и в настоящее время практически не существует эффективных лекарственных средств против данной болезни.

Для создания противовирусных препаратов для лечения болезни Ньюкасла выбран такой класс веществ как четвертичные аммонийные соли. Известно, что четвертичные аммонийные соли обладают выраженными противомикробными и противовирусными свойствами [3]. Наиболее эффективной группой препаратов для лечения заболеваний, вызванных РНК-

вирусами семейства *Paramyxoviridae*, являются синтетические РНК-азы – производные 1,4-дiazонийбицикло[2.2.2]октана [4]. В настоящее время для лечения таких заболеваний применяют препарат тривирон. Однако он имеет ряд недостатков, таких как высокая токсичность и низкая селективность действия.

Цель исследования – осуществить синтез диалкилпроизводного 1,4-дiazонийбицикло[2.2.2]октана для изучения его противовирусной активности и токсичности.

Материалы и методы. В литературе приведены методики синтеза аналогов целевого соединения в протонных и апротонных растворителях [4]. Для проведения синтеза выбран апротонный растворитель ацетон, позволяющий поддерживать температурный режим реакции и хорошо растворяющий исходные реагенты. При этом в литературе описаны два подхода к синтезу четвертичных аммонийных солей на основе 1,4-дiazобицикло[2.2.2]октана, отличающихся порядком кватернизации галоидным алкилом и дигалогеналканом (рис.).

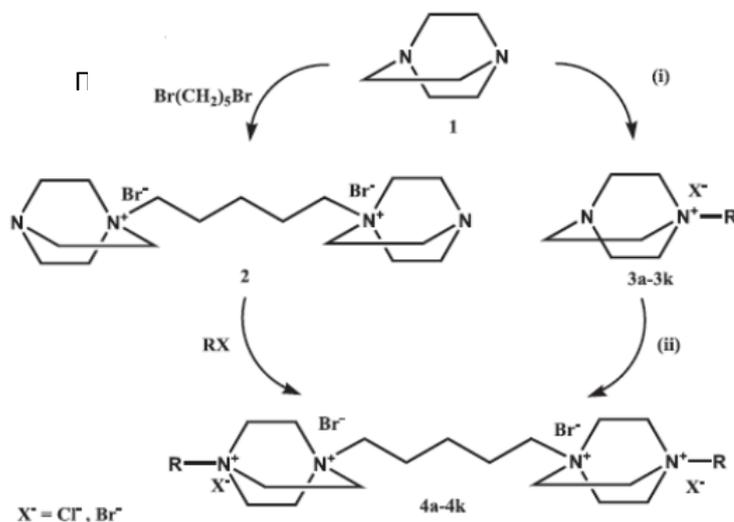


Рис. Схемы возможных вариантов проведения синтеза [3]

Структуру синтезированного соединения подтверждали с помощью  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопии (Bruker Avance III HD при частоте 400 МГц в дейтерированном растворителе  $\text{DMSO-d}_6$  при комнатной температуре). Химические сдвиги ( $\delta$ ) измеряли в миллионных долях (ppm) относительно растворителя  $\text{DMSO-d}_6$  (2,50 ppm).

Результаты и их обсуждение. Для проведения синтеза 1,5-бис-(4-додецил-1,4-дiazонийбицикло[2.2.2]октан-1-ил)пентана тетрабромид использовали путь Б. Такой выбор обусловлен минимизацией возможности протекания побочной реакции диалкилирования. На первой стадии синтеза в ацетоновый раствор 1,4-дiazобицикло[2.2.2]октана химическим количеством 0,02099 моль добавляли 1-бромдодекан в эквимольном соотношении. Реакция протекала в кипящем ацетоне в колбе с обратным холодильником в течение 19 часов. Контроль полноты протекания реакции осуществляли с

помощью ТСХ на пластинках силикагеля. В качестве элюента использовали смесь диэтилового эфира с метанолом в соотношении 60:40. Реакцию считали завершенной, когда на хроматограмме не оставалось следов 1,4-дизабиицикло[2.2.2]октана.

Затем в раствор добавляли 0,0105 моль 1,5-дибромпентана. После чего наблюдали постепенное выпадение белого аморфного осадка. После того, как объем выпавшего осадка перестал увеличиваться, реакцию завершили.

Выделение целевого продукта осуществляли фильтрованием через фильтр Шотта. Осадок промывали 25 мл ацетона и 25 мл дистиллированной воды. Затем его высушивали в сушильном шкафу при температуре 105 °С и выдерживали в вакуумном эксикаторе до постоянной массы. Выход конечного продукта составил 82,61%.

Полученное вещество хранили в стерильных пенициллиновых флаконах.

Спектральные характеристики 1,5-бис-(4-додецил-1,4-дiazонийбицикло[2.2.2]октан-1-ил)пентана тетрабромида:  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO-d}_6$ , 400 МГц):  $\delta = 0,853$  (тр, 6H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+$ ); 1,248 (м, 36H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_9\text{CH}_2\text{N}^+$ ); 1,363 (м, 2H,  $^+\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{N}^+$ ); 1,707 (м, 4H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$ ); 1,821 (м, 4H,  $^+\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$ ); 3,555 (м, 4H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{N}^+$ ); 3,668 (м, 4H,  $^+\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ); 3,966 (д, 24H,  $^+\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ).

Исследовали растворимость синтезированного соединения в воде, протонных и апротонных органических растворителях. Установлена температура плавления  $T_{\text{пл}}$  296 °С (с разложением).

Выводы. В ходе исследований отработана методика синтеза тетрабромида 1,5-бис-(4-додецил-1,4-дiazонийбицикло[2.2.2]октан-1-ил)пентана. Методом  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопии подтверждена его структура. Дальнейшие исследования предполагают изучение противовирусной и антибактериальной активности, острой и хронической токсичности синтезированного вещества.

### Список использованной литературы

1. Virus taxonomy: seventh report of the international committee on taxonomy of viruses / M. H. V. van Regenmortel [et al.] – London: Academic Press, 2000. – P. 1162.
2. Бакулов И. А. Эпизоотическая ситуация по особо опасным болезням животных в 2007-2008 гг. на основе новой классификации МЭБ / И. А. Бакулов, И. В. Вологина // Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 50-летию ВНИИВВиМ, Покров, 13–14 ноября 2008 г. / ВНИИВВиМ. – Покров, 2008. – Т. 1. – С. 6–13.
3. Synthesis and structure–activity relationship of novel 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane derivatives as potent antimicrobial agents /

L. A. Yarinich [et al.] // European Journal of Medicinal Chemistry, 2015. – [Vol. 95](#). – P. 563–573.

4. Artificial ribonucleases: synthesis and RNA cleaving properties of cationic conjugates bearing imidazole residues / D. A. Konevets [et al.] // Tetrahedron, 1999. – Vol. 55, № 2. – P. 503–512.

*Хасанов Д. И., Рудакова Н.Л.*

### **АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ *BACILLUS PUMILUS* В СОСТАВЕ ПРОТЕАЗОДЕФИЦИТНЫХ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS***

Металлопротеиназа *B. pumilus* впервые выделена и охарактеризована учеными Казанского федерального университета. Анализ первичной структуры показал, что новая внеклеточная протеиназа бацилл не имеет аналогов среди прокариотических ферментов и занимает промежуточное классификационное положение между двумя крупными семействами клана метцинкинов – адамализинами и астацинами [Rudakova et al., 2010, Sabirova et al., 2010]. Данные семейства представлены преимущественно эукариотическими ферментами, играющими важную роль в жизни и здоровье человека - развитие эпителиальных тканей, пролиферация и миграция гладкомышечных клеток сосудов, ангиогенез, апоптоз сосудистых клеток, восстановление тканей, заживление ран, атеросклероз, гипертония, аневризма, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда и сердечная недостаточность [Zhong S, 2019; Malemud CJ. 2019]. Для более детального изучения структуры и функций металлопротеиназы *B. pumilus* необходима эффективная система экспрессии данного белка. Ген металлопротеиназы *B. pumilus* (*mprBp*) был клонирован в экспрессионный вектор pGP382 под сильным конститутивным промотором. Полученной конструкцией были трансформированы протеазадефицитные штаммы *B. subtilis* 2036, *B. subtilis* BRB08 и *B. subtilis* BRB14.

Целью данной работы было оценить эффективность экспрессионных систем на основе протеазадефицитных штаммов *B. subtilis*, несущих ген металлопротеиназы *B. pumilus*.

В работе были использованы беспротеазные штаммы *B. subtilis* BRB08 (*trpC2, nprB, aprE, epr, bpr, nprE, mpr, vpr, wprA*) и *B. subtilis* BRB14 (*trpC2, nprB, aprE, epr, bpr, nprE, mpr, vpr, wprA, htrA, htrB*) (Cobra Biologics, Великобритания), а также штамм *B. subtilis* BG2036 (*ΔnprE, Δapr*) (E. Ferrari, Genencore Inc. США), несущие ген металлопротеиназы *B. pumilus* на плазмидном векторе pGP382, который содержит конститутивный промотор pDegQ36 [Herzberg et al., 2007]. Для культивирования штаммов использовалась среда Лурия-Бертани (LB), содержащая эритромицин в конечной концентрации 20 мкг/мл.

Культивирование штаммов проводили на вибростенде (В. Braun, Германия) 200 об/мин при 37°C в течение 48 ч. Посевным материалом

служил 16-часовой инокулят (1% v/v). Определение оптической плотности проводили на спектрофотометре xMark (BioRad, США) при длине волны 600 нм (OD600). Количество биомассы выражали в единицах оптической плотности. Определение протеолитической активности по гидролизу азоказеина (A450) проводилось по методике, описанной в статье [Sabirova et al., 2010].

Изучение динамики роста показало, что все рекомбинантные штаммы имеют схожую кривую роста (рис. 1, 2, 3). Культура экспоненциально растет до 12-14 часа, затем наступает стационарная фаза, и после 30-го часа наблюдается стадия отмирания клеток. Наиболее значимые отличия у штаммов наблюдаются на стадии отмирания. OD600 *B. subtilis* BG2036 к 48 часу роста падает практически до 0,2 (рис.1), в то время как для BRB-штаммов на 48 час составляет 0,8 (рис. 2, 3). Очевидно, что процессы гибели клеток у BRB-штаммов протекают медленнее. Возможно, некоторые из удаленных у этих штаммов внеклеточных протеиназ задействованы в процессах лизиса клеток.

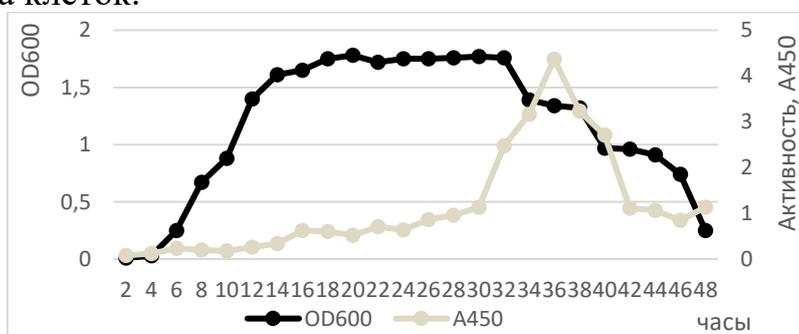


Рисунок 1 – Динамика роста и накопления протеолитической активности рекомбинантным штаммом *B.subtilis* BG2016.

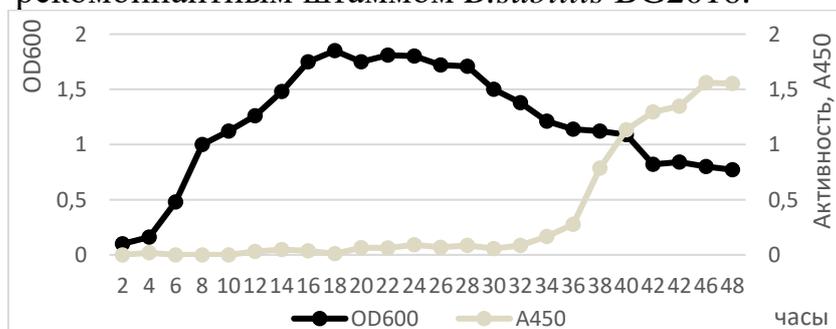


Рисунок 2 – Динамика роста и накопления протеолитической активности рекомбинантным штаммом *B.subtilis* BRB08.

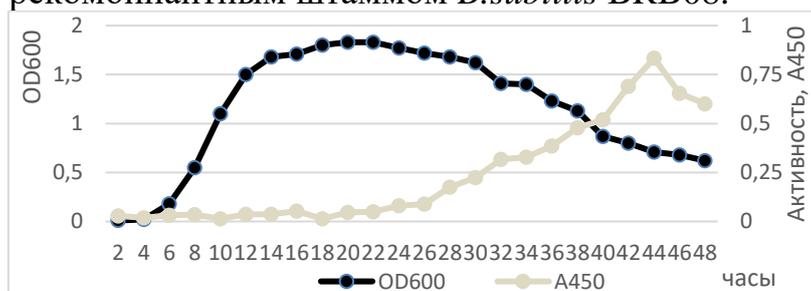


Рисунок 3 – Динамика роста и накопления протеолитической активности рекомбинантным штаммом *B.subtilis* BRB14.

Существенное различие заключается в характере экспрессии металлопротеиназы. У обоих BRB-штаммов активность металлопротеиназы наблюдается только в стадии отмирания культуры (рис. 2, 3). Штамм *B. subtilis* 2036 демонстрирует характерный пик активности на 36-й час, что соответствует стадии замедления роста. Это может указывать на то, что BRB-штаммы экспрессируют металлопротеиназу, но она не выходит в культуральную жидкость, а накапливается в клетках и попадает в окружающую среду только в результате лизиса культуры. Штамм *B. subtilis* 2036 экспрессирует фермент в окружающую среду с достаточно высоким уровнем активности (рис. 1). В данном случае нарушения секреции металлопротеиназы не наблюдается.

Можно предположить, что делетированные у BRB-штаммов внеклеточные протеиназы принимают прямое или опосредованное участие в процессах секреции экспрессируемых клеткой ферментов.

Из исследованных нами рекомбинантных штаммов *B. subtilis*, несущих ген металлопротеиназы *B. pumilus* наиболее эффективным с точки зрения экспрессии целевого белка является штамм *B. subtilis* BG2036.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

#### Список использованной литературы

1. Рудакова Н.Л. Характеристика цинкзависимой эндопептидазы *Bacillus intermedius* / Биохимия // Н.Л. Рудакова и др., 2010. – Т.75. – №10. – С. 1462-1470.
2. Sabirova A.R., Rudakova N.L., Balaban N.P., Ilyinskaya O.N., Demidyuk I.V., Kostrov S.V., Rudenskaya G.N., Sharipova M.R. A novel secreted metzincin metalloproteinase from *Bacillus intermedius* / FEBS Letters. – 2010. – V.584. – p. 4419-4425.
3. Zhong S, Khalil RA. A Disintegrin and Metalloproteinase (ADAM) and ADAM with thrombospondin motifs (ADAMTS) family in vascular biology and disease / Biochem Pharmacol, 2019. –V.164. – P.188-204.
4. Malemud CJ. Inhibition of MMPs and ADAM/ADAMTS / Biochem Pharmacol, 2019. – V.165. – P.33-40.
5. Herzberg C, Weidinger LA, Dörrbecker B, Hübner S, Stülke J, Commichau FM. SPINE: a method for the rapid detection and analysis of protein-protein interactions in vivo / Proteomics, 2007. –V.7(22). – P.4032-4035.

*Хрейм Уаель Б.В., Калинин Е. В., Зубков А. В.*

#### ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ТИРЕОГЛОБУЛИНА В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гормоны щитовидной железы тироксин и трийодтиронин – это небольшие молекулы, которые имеют большое биологическое воздействие.

Они регулируют обмен веществ практически во всех клетках, и имеют важное значение для развития центральной нервной системы, опорно-двигательного аппарата и легких. Это также единственные гормоны, содержащие йод и синтезируемые частично внутри, а частично вне клеток. Димерный гликопротеин под названием тиреоглобулин (каждый мономер которого имеет массу около 330 000 дальтон) служит предшественником, каркасом и резервуаром гормонов щитовидной железы [1]. Также он является маркером рецидива высокодифференцированных злокачественных новообразований щитовидной железы и используется для контроля лечения этих заболеваний.

Из-за большого размера молекулы возможность получения рекомбинантного тиреоглобулина ограничена. Как результат, единственный доступный источник очищенного человеческого тиреоглобулина является ткани щитовидной железы. Но популяция человеческого тиреоглобулина из доноров тканей гетерогенна по уровню гликозилирования и йодирования, что создает проблемы с его использованием в диагностике. Кроме того, различные варианты тиреоглобулина влияют на результаты ИФА, которые используются для скрининга заболеваний щитовидной железы.

Существование универсального стандарта рекомбинантного тиреоглобулина устранило бы существующие проблемы с коммерчески очищенным препаратом, но до настоящего времени не было показано, что традиционная система экспрессии поддерживает рекомбинантную продукцию этого белка. *E. coli*, возможно, является наиболее простой системой экспрессии рекомбинантных белков и при ее использовании были созданы коммерчески значимые белки, такие как человеческий инсулин и другие терапевтические ферменты [2], но при этом возникают трудности с экспрессией больших молекул, такие как тиреоглобулин.

Дрожжи были использованы в качестве системы экспрессии рекомбинантного белка, поскольку они способны к образованию дисульфидных связей и посттрансляционным модификациям; однако вариации в гликозилировании были препятствием у некоторых видов [3] и привели к снижению выхода рекомбинантного белка [2]. Бакуловирусные и клеточные системы млекопитающих использовались для производства рекомбинантных белков, поскольку они устраняют ограничения систем кишечной палочки и дрожжей, но и те, и другие создают технические препятствия (например, поддержание клеточных культур) и не дают стоимостного преимущества текущей очистке рекомбинантного тиреоглобулина из тканей человека.

Powell R. et al. Была создана экспрессионная система на основе семян сои [4]. Подлинность рекомбинантного тиреоглобулина была подтверждена методом иммуноферментного анализа с использованием коммерчески доступных наборов, разработанных специально для обнаружения данного белка. Однако синтез белка в организме растения не позволяет широко использовать данный метод.

Таким образом, были сделаны попытки создать систему экспрессии тиреоглобулина для его применения в диагностике, но у всех методов были недостатки. В качестве альтернативы можно использовать не неполноценный белок, а фрагмент тиреоглобулина. Для этого необходимо найти участок белка, который будет характерным для тиреоглобулина. В данной форме белок будет успешно клонирован в *E. coli*, что позволит избежать проблем, присущих экспрессии всей молекулы.

#### **Список использованной литературы**

1. Citterio С.Е., Targovnik Н.М., Arvan Р. The role of thyroglobulin in thyroid hormonogenesis // Nat. Rev. Endocrinol. Nature Research, 2019. Vol. 15, № 6. P. 323–338.
2. Demain А.Л., Vaishnav Р. Production of recombinant proteins by microbes and higher organisms // Biotechnol. Adv., 2009. Vol. 27, № 3. P. 297–306.
3. Gerngross T.U. Advances in the production of human therapeutic proteins in yeasts and filamentous fungi // Nat. Biotechnol., 2004. Vol. 22, № 11. P. 1409–1414.
4. Powell R. et al. Recombinant expression of homodimeric 660 kDa human thyroglobulin in soybean seeds: An alternative source of human thyroglobulin // Plant Cell Rep. 2011. Vol. 30, № 7. P. 1327–1338.

*Батура Т.Р., Водчиц Н.В., Беда И.О.*

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ УСКОРЕННОГО  
РАЗМНОЖЕНИЯ ВИНОГРАДА И ПРИМЕНЕНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ  
РОСТА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO***

Актуальность. Виноград как техническая культура в последнее время становится очень актуальной в Беларуси. В республике, в частности Гомельская и Брестская области, активно закладывают виноградники техническими сортами для промышленного производства винного материала [1].

Применение технологий размножения в условиях *in vitro* позволяет решить проблему производства сертифицированного и оздоровлённого посадочного материала за короткое время [2].

Цель работы – оптимизация питательных сред на этапе введения, стабилизации и укоренения асептических растений винограда в культуре *in vitro*.

Задачи:

- 1) отработка этапов стерилизации для успешного введения винограда в культуру *in vitro*;
- 2) подбор оптимальных сред на этапе культивирования первичных эксплантов;
- 3) подбор сред для укоренения регенерантов.

Материалы и методы: Исследования проводились на базе отраслевой лаборатории «ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве» биотехнологического факультета УО «Полесский государственный университет» с февраля по декабрь 2020 года.

В качестве объекта исследований использовали экспланты винограда сорт Бианка с 1 междоузлем в количестве 48 штук. Культивирование *in vitro* проводили по описанной ранее методике [3].

По истечении 7, 14 и 30 дней проводили замеры количества образовавшихся побегов и междоузлий.

На стадии укоренения так же применяли среду MS с добавлением Na без гормона, и в присутствии гормонов:  $\beta$ -индолилуксусной кислоты (ИУК),  $\alpha$ -нафтилуксусная кислота (НУК), индолил-3-масляной кислотой (ИМК) с концентрациями 2,0 мг/л и с ИМК + ИУК с концентрациями 1,0 мг/л каждый.

На 40 день определяли приживаемость растений, а так же проводили замеры образовавшихся корней.

Экспланты культивировали на стеллажах световой установки при температуре +25 °С и освещении 4000 люкс при 16-ти часовом фотопериоде.

Статистический анализ данных проводили с помощью программы Excel 2016 г, с использованием пакета анализа данных.

Результаты и их обсуждения. Введения в культуру *in vitro* является одним из первых этапов, определяющих успех всей работы с новой культурой [1]. Растительные экспланты, как правило, стерилизуют растворами веществ, содержащими активный хлор, перманганат калия, перекись водорода и др. [4]. В нашем случае мы проводили стерилизацию растворами фунгицидов и гипохлоритом натрия. Выход стерильных жизнеспособных растений составил 95 %.

Следующим этапом эксперимента стало перенесение полученных стерильных эксплантов на чистую агаризованную среду MS и MS с добавлением Na с содержанием гормона БАП в концентрациях: 0; 0,5; 1 мг/л. Самый низкий показатель был выявлен на стандартной среде MS без добавления гормона. Лучший рост эксплантов наблюдался на стандартной среде MS в присутствии БАП с концентрацией 0,5 мг/л, а так же на среде MS с добавлением Na в присутствии БАП в концентрации 1,0 мг/л.

Далее растения подвергались регенерации на среде MS с добавлением Na в присутствии БАП в концентрации 1,0 мг/л.

На 45 день регенерации наблюдалось активное корнеобразование. В дальнейшем это можно использовать для исключения этапа укоренения.

На этапе ризогенеза *in vitro* брали регенеранты со средней длиной побега 15–20 мм, и со средним количеством листьев 2–3 штуки. Применяли среду MS с добавлением Na без гормона, и в присутствии гормонов: ИУК, НУК, ИМК с концентрациями 2,0 мг/л и с ИМК + ИУК с концентрациями 1,0 мг/л каждый. Далее высчитывали процент приживаемости растений, а так же проводили замеры образовавшихся корней (Таблица).

Таблица

Процент приживаемости растений, и количество образовавшихся корней

Гормоны	Процент приживаемости растений	Количество корней	Самый длинный корень, мм.	Самый короткий корень, мм.
Без гормона	44,4 %	2,85 ± 0,15	51 ± 1,0136	24,05 ± 1,307
ИУК	82,2 %	4,649 ± 0,195	64,216 ± 1,521	34,405 ± 1,094
НУК	33,3 %	2,133 ± 0,165	39,4 ± 1,505	18,4 ± 1,125
ИМК	66,7 %	4,161 ± 0,174	54,87 ± 1,619	28,613 ± 1,485
ИМК + ИУК	88,9 %	5,425 ± 0,171	65,025 ± 1,191	39,375 ± 0,945

Примечания. Данные представлены как среднее арифметическое ± стандартная ошибка средних.

Наилучший результат наблюдался в присутствии гормонов ИУК с концентрацией 2,0 мг/л и ИМК + ИУК с концентрацией 1,0 мг/л каждого.

Худший результат наблюдался в присутствии гормона НУК с концентрацией 2,0 мг/л.

Используя методику стерилизации с применением фунгицидов и раствора гипохлорита натрия, удалось получить оздоровленные экспланты винограда с выходом 95 %.

Так же в ходе проведенных исследований мы выявили, что наиболее благоприятными средами для развития винограда на этапе введения в культуру *in vitro* являются: MS стандартная в присутствии гормона БАП с концентрацией 0,5 мг/л, и MS с добавлением Na в присутствии гормона БАП с концентрацией 1,0 мг/л.

На этапе укоренения наиболее благоприятными средами являются MS в присутствии гормонов ИУК с концентрацией 2,0 мг/л, и ИМК + ИУК с концентрацией 1,0 мг/л каждого гормона.

Наличие корнеобразования при регенерации дает возможность исключить один из этапов клонального микроразмножения, что позволяет ускорить процесс получения оздоровленного посадочного материала и снизить его стоимость.

#### **Список использованной литературы**

1. Красинская Т. А. Введение в культуру *in vitro* эксплантов винограда в период активного роста / Т. А. Красинская, Е. Н. Бирюк // Плодоводство: сборник научных трудов / Беларуская навука ; редкол. : Самусь. В. А. (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2018. Т 30. – С. 202–211.
2. Зеленко В. А. Метод культивирования растений винограда в условиях *in vitro* в стерильном песке, обогащенном питательным раствором / В.А. Зеленко, И. А. Павлова // Магарац. Виноградарство и виноделие, 2012. – № 4. – С. 14–16.
3. Батура Т. Р. Асептическое введение винограда в культуру *in vitro* / Т. Р. Батура, И. О. Беда, Н. В. Водчиц // научный потенциал молодежи – будущему Беларуси: Материалы XIV международной научно–практ. конф. Пинск 3 апреля 2020 г. / ПолесГУ , редкол.: Шебеко К. К. (гл. ред.) [и др.]. – Пинск, 2020. – С. 4–6.
4. Дорошенко Н.П. Особенности микрклонального размножения интродуцентов и клонов винограда / Н.П. Дорошенко // Научный журнал КубГАУ, 2008. – №40(6). – С. 154–172.

**Булекова Л.В.**

#### **АНАЛИЗ СРЕДСТВ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МЕТОДОВ ПРОФИЛАКТИКИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ПТИЦ**

По заключению экспертов Всемирной организации здравоохранения сальмонеллез, как зоонозная инфекция, не имеет себе равных по сложности эпизоотологии, эпидемиологии и трудностям борьбы с ним [1]. Хозяйства,

сталкиваясь с проблемой сальмонеллеза, несут большие потери из-за смертности молодняка, снижения продуктивности, качества продукции и наложения ограничительных мероприятий на выпуск продукции. Обсемененные сальмонеллами яйца и мясо птиц являются основными причинами пищевых токсикоинфекций у людей [2,3,4].

Возбудитель болезни *Salmonella* spp. широко распространен в природе. Восприимчивы к заболеванию все виды домашних и диких животных и человек. Вспышки сальмонеллеза среди животных и среди людей встречаются в различных странах мира, но, особенно, большой проблемой сальмонеллез является для стран с развитым промышленным птицеводством [5].

По данным ветеринарной отчетности субъектов Российской Федерации в 2020 году было зарегистрировано 38 неблагополучных пункта (в 2019 году – 40) по сальмонеллезу из них птицы – 11. Вспышки сальмонеллез у птиц регистрировались в 9 субъектах Российской Федерации.

В этиологической структуре сальмонеллез у птиц наиболее значимыми являются: *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. gallinarum-pullorum*, *S. infantis*.

Эффективность проводимых мероприятий против сальмонеллеза птиц недостаточна. Антибиотикообработки не позволяют избавить птицу от сальмонеллеза, не способны профилактировать и ликвидировать инфекцию, а предотвращают лишь массовое клиническое проявление заболевания [6,7,8].

Для лечения сальмонеллез у птиц во всем мире используется большое количество разнообразных антибиотических препаратов. Полирезистентные сероварианты сальмонелл широко распространились среди сельскохозяйственных животных, а также птиц. В ряде стран Европы резистентность к традиционным антибиотикам составляет до 30 %, в некоторых странах Юго-Восточной Азии она достигает 90%. Полирезистентность к антибиотикам установлена у многих серовариантов сальмонелл *S. typhimurium*, *S. virchow*, *S. hadar*, *S. enteritidis*, *S. infantis*. Антибиотикорезистентность штаммов *S. enteritidis*, выделенных от птиц и других видов животных на территории Российской Федерации, по последним данным, к некоторым антибиотическим препаратам составила: аминогликозиды – до 50%; бета-лактамы – до 30%; цефалоспорины – до 30%, тетрациклины – до 50%, фторхинолоны – до 20%, нитрофураны – до 56%, сульфаниламиды – до 30%, левомицетины – до 65%. Высокая резистентность штаммов сальмонелл, выделенных от животных, к отдельным противомикробным препаратам создает реальную опасность передачи их по пищевой цепи людям.

Таким образом, решение проблемы по борьбе с сальмонеллезной инфекцией не может опираться только на антибиотикотерапию, требуется системный подход с учетом всех имеющихся на сегодняшний день методов борьбы с сальмонеллезами, включая вакцинопрофилактику, а также увеличение роли контроля безопасности кормов, санитарного состояния

объектов птицеводства и птицеперерабатывающих предприятий. Требуется совершенствования специфическая профилактика сальмонеллеза птиц с использованием средств активной иммунизации [1].

На данный момент в проблеме вакцинации против сальмонеллеза птиц учитывается:

- разработка национальных программ контроля сальмонеллеза и вакцинопрофилактики;
- проведение своевременной вакцинации всего поголовья птицы против *Salmonella Enteritidis* и *Salmonella Typhimurium*;
- осуществления правильного выбора и применения вакцин.

Вакцинация может проводиться с помощью инактивированных или живых вакцин;

Живые вакцины вводятся с помощью спрея или добавляются в питьевую воду, то есть не требуют инъекций, что облегчает их внедрение в производство.

Живые вакцины обеспечивают лучшую защиту благодаря тройным защитным механизмам (клеточно-опосредованное, гуморальное и колониальное ингибирование) для быстрой, ранней и длительной сильной стимуляции иммунного ответа.

Использование новых поливалентных живых вакцин, защищающих от наиболее опасных сероваров (например, *Salmonella Enteritidis* и *Salmonella Typhimurium*) [9].

В настоящее время для активной вакцинопрофилактики сальмонеллезом птиц на территории Российской Федерации активно применяются вакцины отечественного производства таких производителей как: ФКП «Ставропольская биофабрика», ФКП «Армавирская биофабрика», ФГБУ «ВНИИЗЖ», и зарубежных: «CEVA-BIOMUNE Veterinary Biologicals Company», США), «Lohmann Animal Health GmbH», Германия), «Laboratorios Hipra», Испания).

На ФКП «Ставропольская биофабрика» на протяжении многих лет успешно производится вакцина против сальмонеллеза водоплавающей птицы живая, сухая. Вакцины изготавливаются из штамма *Salmonella typhimurium* №3 стабилизированного в среде высушивания. Данная вакцина способствует формированию иммунного ответа продолжительностью до 3 месяцев.

В настоящее время сотрудниками ФКП «Ставропольская биофабрика» ведутся работы по усовершенствованию технологии производства вакцины, а также по маркированию вакцинного штамма.

### Список использованной литературы

1. Рождественская Т.Н. Профилактика сальмонеллеза птиц / Vetpharma: Farm Animals // Т.Н. Рождественская, С.С. Яковлев, Е.Н. Кононенко, 2012. – №1. . – С 54 – 56.

2. Пименов Н.В. Специфическая борьба с сальмонеллой в условиях птицеводства / Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences // Н.В. Пименов. – № 11(23). – С. 16-23.
3. Данилевская Н.В. Новое в антибиотикотерапии: антибиотикорезистентность - угроза реальна // Новейшие разработки в ветеринарии. Клеточная терапия: Мат-лы совм. конф. / Н.В. Данилевская, Н.В. Пименов. – М.: ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2006. – С. 16-22.
4. Куриленко А.Н. Рекомендации по диагностике, профилактике и ликвидации сальмонеллеза кур / А.Н. Куриленко, и др. – М.: МСХ/МГАВМиБ, 2002. – 34 с.
5. Гильмутдинов Р.Я. Дикие животные – природный резервуар сальмонеллезной инфекции / Международ. научно-практ. конф. «Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства», посвященная 90-летию ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова. 22-25 мая 2012 г. // Р.Я. Гильмутдинов, А.В. Иванов. – Киров, 2012. – С. 349-350.
6. Ленёв С.В. Сальмофаг лечебно-профилактический препарат // Мат-лы науч. конф., посвящ. 50-летию Краснодарской НИВС // С.В. Ленёв, Ю.А. Малахов, В.В. Шорохов. – Краснодар, 1996. – Ч. 1. – С.26-30.
7. Куриленко А.Н. Рекомендации по диагностике, профилактике и ликвидации сальмонеллеза кур / А.Н. Куриленко, Н.В. Пименов, С.В. Ленеv, Ю.Н. Малахов, С.С. Яковлев. – М.: МСХ/МГАВМиБ, 2002. – 34 с.
8. Данилевская Н.В. Фармакостимуляция продуктивности животных пробиотическими препаратами: Дисс. докт. вет. наук / Н.В. Данилевская // ФГОУ ВПО МГАВМиБ. – М., 2007. – 330 с.
9. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации «Национальная программа по профилактике, выявлению и контролю сальмонеллезной инфекции в птицеводческих хозяйствах Российской Федерации на 2018-2023 годы» [Электронный ресурс]. – М., 2018.

*Волинчук Н.Н., Жук О.Н.*

## **ЭНДОФИТНЫЕ ДРОЖЖИ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО**

Виноград является одной из наиболее распространенных и ценных плодовых культур [5]. Продукция виноградной лозы универсальна, ягоды употребляются в свежем виде, идут на промышленную переработку. Интерес к культуре винограда был и остается всегда. Потепление климата и успехи селекционеров-генетиков привели к тому, что виноградарство стало динамично развиваться в Беларуси. Наиболее подходящие для него условия складываются в Гомельской, Брестской и юге Минской областей, где выращивание винограда экономически целесообразно [6].

В Пинском регионе виноградом интересовались издавна. Согласно историческим данным, в 1948 году в г. Пинске был создан Опорный пункт по винограду и другим южным культурам. В 2003 г. Пинский винодельческий

завод заложил первый промышленный виноградник посадочным материалом из сортов коллекции этого Опорного пункта [9].

Виноград – прекрасная модельная система для изучения микробиома древесных многолетних культур [8]. Это сложная экосистема, в которой различные ниши заселены микроорганизмами – эпифитными, ризосферными и эндофитными [3]. Термин «эндофит» в самом широком его понимании означает бактерии и грибы, присутствие которых в растительных тканях бессимптомно и не сопровождается какими-либо патологическими изменениями растений [7]. Среди эндофитов винограда весьма привлекательным является изучение дрожжей, которые, как известно, относятся к числу наиболее типичных эпифитных микроорганизмов, обитающих на поверхности различных частей растений в качестве эккрисотрофов [3]. В то же время представители этой группы одноклеточных грибов населяют и внутренние ткани растений.

Целью работы являлось изучить изоляты эндофитных дрожжей корней винограда культурного по макроморфологическим, микроморфологическим и физиолого-биохимическим показателям.

Исследования выполнены на кафедре биотехнологии ПолесГУ. Образцы корней трехлетнего винограда культурного отобраны на плантации ОАО «Пинский винодельческий завод». При исследовании эндосферы корней проводили трехступенчатую поверхностную стерилизацию спиртом и гипохлоритом натрия [4]. Дрожжи выделяли на твердую питательную среду Сабуро, культивировали при 30°C в течение 72 часов. Морфологию живых клеток изучали методом световой микроскопии, используя микроскоп Olympus SC30.

Контроль роста выделенной культуры осуществляли визуально, учитывая особенности роста на плотных (Лундина, Городковой, глюкозо-аммонийной, среде YEPD) и жидких (глюкозо-аммонийной, виноградном сусле) питательных средах [2].

Способность к протеолитической активности определяли путем посева культуры уколом в столбик питательного бульона, содержащего 12% желатина, регистрировали наличие разжижения и его характер. Для установления способности сбраживать сахара (глюкоза, сахароза, лактоза, мальтоза) использовали модификацию метода, описанного в справочном пособии «Методы выделения и идентификации дрожжей» [2]. Способность дрожжей ассимилировать различные источники углерода (глюкоза, галактоза, сахароза, ксилоза) определяли по помутнению среды, образованию пленки или осадка [1, 4].

Из внутренних тканей корней винограда было выделено 3 типа колоний дрожжей. Изоляты на разных средах образуют колонии разного цвета. На среде ГАС и Сабуро: № 1 – розовый, № 2 – белый, № 3 – желтый; на средах Городковой, Лундина – белые; на сусло-агаре: №1 и №3 кремовый, № 2 серый. По макроморфологическим признакам установлено, что изолят №1 и №3 по штриху растут сплошной колонией с волнистым краем, а изолят

№ 2 образует изолированные колонии, расположенные в цепочку. Профиль колоний изолятов № 1 и № 2 выпуклый, а у изолята № 3 плоский с проявлением лучистости. Изоляты № 1 и № 2 имеют блестящую поверхность и схожую сметанообразную консистенцию, а изолят № 3 образует матовую колонию пастообразной консистенции. Форма клеток всех изолятов круглая, в клетках присутствуют гранулы гранулезы и гликогена, а также жировые включения. Волютин обнаружен в клетках изолятов № 2 и № 3. В жидких питательных средах все исследуемые изоляты вызывают помутнение и формируют осадок (№1 – среднее помутнение, №2 – сильное, №3 – слабое).

Установлено, что протеолитической активностью изоляты не обладают. Что касается способности сбраживать различные источники углерода выявлено, что изолят № 1 сбраживал глюкозу, лактозу, сахарозу и мальтозу; изолят № 3 сбраживал глюкозу и сахарозу; у изолята № 2 таких свойств не обнаружено. По способности к ассимиляции различных источников углерода наибольшую активность проявил изолят № 3 – во всех экспериментах наблюдалось образование осадка, помутнение среды и образование пленки.

Полученные результаты корректируют сложившиеся представления об особенностях распространения дрожжевых грибов в природных экологических нишах и позволяют рассматривать внутренние ткани винограда как достаточно обычное их местообитание, как перспективный источник для поиска новых таксонов и как новую интересную модель для исследования коэволюционирующих микробно-растительных ассоциаций.

#### **Список использованной литературы**

1. Бабьева И. П. Биология дрожжей / И.П. Бабьева, И.Ю. Чернов. – М.: КМК, 2004. – 239 с.
2. Бабьева И. П. Методы выделения и идентификации дрожжей / И.П. Бабьева, В. И. Голубев. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 120 с.
3. Васильева Е.Н. Эндوفитные микроорганизмы в фундаментальных исследованиях и сельском хозяйстве / Е.Н. Васильева, Г.А. Ахтемова, В.А. Жуков // Genetic basis of ecosystems evolution, 2019. – №.17. – P. 19 – 32.
4. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студ. высш. учеб. заведений / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
5. Олешук Е.Н. Виноградарство в Беларуси: современное состояние и перспективы / Е.Н. Олешук, Е.Г. Попов // Современное садоводство – Contemporary horticulture, 2013. – №2. – С. 1 – 9.
6. Соболев С.Ю. Выращивание винограда в Беларуси: популярные сорта / С.Ю. Соболев - Мн.: Сэр-Вит, 2010. – 64 с.
7. Doty S.L. Endophytic yeasts: biology and applications, in symbiotic endophytes / S.L. Doty et al. // Springer, 2013. – P. 335 – 343.
8. Belda I. From vineyard soil to wine fermentation: microbiome approximations to explain the «terroir» concept / I. Belda et al. // Front Microbiol. – 2017. – No. 7. – P. 805 – 821.

9. Адамович В. Пинский опорный пункт по винограду и другим южным культурам / В. Адамович [Электронный ресурс]. – 2021. – Режим доступа: <http://myvinogradnik.ru/pinskij-opornyj-punkt-po-vinogradu-i-drugim-yuzhnym-kulturam/>. – Дата доступа: 16.03.2021.

*Гильмутдинова А.И., Васильева Ю.А.,  
Корягина А.О., Данилова Ю.В., Шарипова М.Р.*  
**ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ТРАНСФОРМАЦИИ ШТАММОВ  
BACILLUS PUMILUS**

Бактерии *Bacillus pumilus* секретируют различные внеклеточные белки, включая протеолитические ферменты и являются перспективной платформой для производства коммерческих ферментов. В отличие от детально разработанных экспрессионных систем на основе *E. coli*, грамположительные бактерии не синтезируют эндотоксинов, имеют хорошо развитую систему секреции, что значительно облегчает производство белковых препаратов. Однако низкая эффективность трансформации бацилл является препятствием для получения высокого выхода целевого фермента. Трансформация в клетки бацилл – это малоэффективный и трудоемкий процесс, поскольку состоянием компетентности управляет ряд регуляторных систем клетки [4,5].

*B. pumilus* – бактериальный штамм с высоким генетическим разнообразием, который может применяться для производства различных метаболитов. Было показано, что *B. pumilus* является эффективным хозяином для гетерологичной экспрессии белка благодаря его превосходным секреторным способностям. Однако отсутствие эффективных инструментов для редактирования генома сильно затрудняли развитие этого штамма.

Целью исследования является оптимизация условий трансформации двух штаммов *B. pumilus* – 7P и 3-19.

В работе использовали штаммы и плазмиды из музея лаборатории Биосинтеза и биоинженерии ферментов КФУ: лабораторный стрептомицин-устойчивый штамм *B. pumilus* 3-19 (strR) и *B. pumilus* 7P; Плазмидный вектор pGP382 предоставлен профессором Т. Mascher (Мюнхенский университет Людвиг-Максимилиана, г. Мюнхен, Германия) [2].

Трансформацию *B. pumilus* 3-19 и *B. pumilus* 7P проводили методом электропорации, описанному в [Shen, 2013]. Для трансформации бактерий *B. pumilus* нами были протестированы наиболее оптимальные условия, описанные в работе.

Электропорацию проводили с использованием MicroPulser Electroporation (Bio-Rad), с применением двух программ: StA и Ec3 - аликвоты подвергали электропорации при напряженности поля 1.8 и 3.0 кВ, соответственно. В качестве восстановительной среды была использована среда SOC1 следующего состава: (2% триптона, 0.5% дрожжевого экстракта, 0.05% NaCl, 2.5 ммоль/л KCl и 10% сахарозы, pH 7.0). В ходе работы были

использованы два буфера электропорации, включая РЕВ1 (0,5 моль/л сахарозы, 0,1 ммоль/л  $\text{KH}_2\text{PO}_4 / \text{K}_2\text{HPO}_4$ , рН 7.4) и АЕВ (0.5 моль/л сахарозы, 1 ммоль/л цитрата аммония, рН 6.0). Культивирование штаммов *B. pumilus* 3-19 и *B. pumilus* 7P в колбах объемом 250 мл позволило достичь поздней логарифмической стадии на 4 час. В связи с чем, компетентные клетки получали, инокулируя 500 мкл ночной культуры данных штаммов в 50 мл среды LB, и, культивируя при 37 °С и 180 об/мин в течение 4 часов (до достижения  $\text{OD}_{600}=1.0$ ).

В результате эксперимента трансформированных штаммов получено не было.

Напряженность импульсного электрического поля высокого напряжения широко используется при генетической трансформации бактерий. Напряженность поля влияет на частоту трансформации, и для большинства прокариотических клеток соответствующее электрическое напряжение находится в диапазоне от 6 до 14 кВ [1,3]. В связи с этим трансформация штаммов *B. pumilus* 3-19 и *B. pumilus* 7P может быть достигнута путем дальнейшей оптимизации условий электропорации.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета при поддержке Российского научного фонда (проект № 16-16-04062).

#### Список использованной литературы

1. Aune, T. E. V. Methodologies to increase the transformation efficiencies and the range of bacteria that can be transformed [Text] / T. E. V. Aune, F. L. Aachmann // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2009.- V.85(5). – P.1301–1313.
2. Herzberg C., Weidinger L.A., Dörrbecker B., Hübner S., Stülke J., Commichau F.M. // Proteomics, 2007. V. 7. P. 4032–4035.
3. Shen, X. Development of a high-efficient transformation system of *Bacillus pumilus* strain DX01 to facilitate gene isolation via gfp-tagged insertional mutagenesis and visualize bacterial colonization of rice roots [Text] / X. Shen, Y. Chen, T. Liu, X. Hu, Z. Gu. // Folia Microbiologica, 2013. – V.58(5). – P.409–417.
4. Vojcic, L. An efficient transformation method for *Bacillus subtilis* DB104 [Text] / L. Vojcic, D. Despotovic, R. Martinez, K.-H. Maurer, U. Schwaneberg // Applied Microbiology and Biotechnology, 2012. – V.94(2). – P.487–493.
5. Zhang, X. Stress-induced, highly efficient, donor cell-dependent cell-to-cell natural transformation in *Bacillus subtilis* [Text] / Zhang X, Jin T, Deng L, Wang C, Zhang Y, Chen X. // J Bacteriol, 2018 – V.200. – P.267-318.

*Глинская Н.А., Николаева В.В.,  
Сильченко Е.С., Приловская Е.И.*

## **ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛЕЛОТИПА У КОРОВ БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ ПО ЛОКУСАМ ГЕНА БЕТА-КАЗЕИНА И КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОКА**

Молочное скотоводство является одной из важнейших отраслей сельского хозяйства Беларуси, которое стремится к достижению положительных результатов в вопросах, как увеличения производства молока, так и к улучшению его качества [1,2].

Достижения современной молекулярной генетики позволяют на уровне ДНК определять гены, контролирующие хозяйственно-полезные признаки животных.

В качестве потенциальных маркеров молочной продуктивности могут рассматриваться аллели генов молочных белков и гормонов. В последнее время все чаще ученые обращают внимание на исследование полиморфизма гена бета-казеина (CSN2) у крупного рогатого скота и выявление связей между его генотипами и признаками продуктивности животных [3].

Кроме того, на сегодняшний день достаточно актуальна проблема производства безопасной для потребителя молочной продукции. В последние годы проведены исследования, посвященные изучению влияния полиморфизма локуса бета-казеина (CSN2) на безопасность молока и молочных продуктов.

В связи с выше изложенным, целью проведенных исследований явилась оценка частоты встречаемости аллелей и генотипов гена бета-казеина и определение эффективности его влияния на молочную продуктивность крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы.

Для достижения поставленной цели решены следующие задачи: адаптирована методика и проведение генотипирования животных крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы по гену CSN2; исследована генетическая структура и генное равновесие исследуемой популяции животных по гену CSN2; выявлена взаимосвязь гена CSN2 с молочной продуктивностью крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы.

Исследования проводились в отраслевой лаборатории ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве и отраслевой лаборатории «Лонгитудинальные исследования» на базе УО «Полесский государственный университет».

В качестве объекта исследований была использована популяция коров белорусской черно-пестрой породы (n=100), разводимая в филиале ОАО «Лунинецкий молочный завод» Брестской области.

В качестве материала для выделения ядерной ДНК были взяты выщипы ушной раковины 100 животных и использован перхлоратный метод

выделения ДНК. Определение аллельного полиморфизма и генотипов по гену CSN2 проводили методом ПЦР-ПДРФ анализа.

Определение процента жира и белка в молоке проводили по общепринятым методикам.

В результате молекулярно-генетического тестирования животных белорусской черно-пестрой породы был выявлен полиморфизм гена бета-казеина CSN2 и проанализировано генное равновесие в данной популяции.

Анализ полиморфизма 100 животных крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы по гену бета-казеина CSN2 показал, что в стаде большинство животных – 76% являются носителями генотипа CSN2<sup>A2A2</sup>, 17% – CSN2<sup>A1A2</sup> и только 7% CSN2<sup>A1A1</sup>. Частота встречаемости аллелей CSN2<sup>A1</sup> и CSN2<sup>A2</sup> составила 0,845 и 0,155 соответственно.

Результаты по молочной продуктивности коров за 305 дней лактации показали, что наибольшая величина удоя молока отмечается у коров с CSN2<sup>A1/A2</sup> (5488,8±506,57 кг) и CSN2<sup>A2/A2</sup> (5084,3±131,86 кг) генотипами. При этом гомозиготные коровы по аллели CSN2<sup>A1</sup> отставали по удою от гетерозиготных особей (CSN2<sup>A1/A2</sup>), разница составила более 1450 кг молока (P<0,01). По качественному составу молока (белок и жир), коровы разных генотипов различались незначительно (таблица).

Таблица

Показатели качества молока животных белорусской черно-пестрой породы дифференцированных по генотипам гена CSN2

генотип	ГОЛОВ, n	жир, %	белок, %	мочевина, %	удой за 305 дней, кг
CSN2 <sup>A1/A1</sup> 1	7	4,03±0,329* *	3,97±0,133 *	23,43±1,9**	4030±605,05**
CSN2 <sup>A1/A2</sup> 2	17	4,15±0,185* *	3,92±0,098 *	25,41±1,57**	5488,80±506,57* *
CSN2 <sup>A2/A2</sup> 2	76	4,43±0,074* *	3,86±0,042 *	22,30±0,069* *	5084,30±130,86* *

Примечание: \* – P<0,05

\*\* – P<0,01

С помощью ДНК-технологий проведена диагностика трех генотипов, сформированных нормальным β-CNA2 и мутантным β-CNA1 аллелями. Показана встречаемость генотипов и аллелей в локусе бета-казеина у исследованных коров белорусской черно-пестрой породы, наиболее широко разводимой в условиях Беларуси. Выявлена устойчивая необходимость осуществления строгого генетического контроля используемого генетического материала в этой области.

#### Список используемой литературы

1. Дубынин, В.А. Бета-казеины и их роль в регуляции поведения / В.А. Дубынин, А.А. Каменский // Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 306 с.

2. Характеристика российских молочных пород крупного рогатого скота по встречаемости генотипов и аллелей в локусе бета-казеина / Марзанов Н.С. [и др.] // Ветеринария. Зоотехния. Биотехнология, 2020. – №1. – С. 47-52.
3. Kaminski, S. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health / S. Kaminski, A. Cieslinska, E. Kostyr // J. Appl. Genet, 2007. – Vol. 48 (3). – P. 189-198.

*Григчина Т.Е., Акосах Й.А.,  
Костенникова З.С. Марданова А.М.*

### **ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ ШТАММОВ *FUSARIUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РИЗОСФЕРЫ КАРТОФЕЛЯ**

Микромицеты рода *Fusarium* являются облигатными обитателями почвы и ризосферы растений. С помощью экзогенных ферментов они расщепляют комплексные углеводородные полимеры почвы до простых соединений и представляют собой богатейший источник многих экономически важных гидролаз. Роль микромицетов рода *Fusarium* в биотехнологии давно известна. Грибные целлюлазы находят широкое коммерческое и промышленное применение. Они используются в переработке продуктов питания, приготовлении кормов для животных, мыла и моющих средств, а также в целлюлозно-бумажной и в текстильной промышленности. Лигноцеллюлозные отходы используются для производства этанола, важного растворителя, имеющего широкое промышленное применение [2,3]. Амилазы используют в хлебобулочной промышленности в качестве добавки Е1100 [1].

Целью работы является сравнительная характеристика активности внеклеточных гидролаз изолятов *Fusarium*, выделенных из ризосферы картофеля.

Материалы и методы исследования. Штаммы *Fusarium* S83, S84, S86 и S101 были ранее нами выделены из ризосферной почвы картофеля. Для определения ферментативной активности культуры инкубировали в жидкой среде Манделя при 28 °С и аэрации (180 об/мин) в течение 7 сут. Культуральную жидкость освобождали от мицелия с помощью центрифугирования при 4000 об/мин в течение 15 мин и использовали в качестве неочищенного фермента.

Общую целлюлазную активность оценивали по гидролизу фильтровальной бумаги, для чего к диску бумаги диаметром 7 мм добавляли 20 мкл культуральной жидкости и 40 мкл 50 мМ Na-цитратного (Na-ацетатного) буфера, рН 4,8 и инкубировали в течение 60 мин при 50 °С. Затем добавляли 120 мкл раствора DNS (динитросалициловая кислота) и инкубировали при 95 °С в течение 5 минут. Затем отбирали 36 мкл реакционной смеси и добавляли к 160 мкл H<sub>2</sub>O и измеряли оптическую плотность при 540 нм.

Эндоглюканазную активность оценивали по гидролизу КМЦ (карбоксиметилцеллюлоза). Для этого к 20 мкл культуральной жидкости добавляли 40 мкл 2% КМЦ и 40 мкл 50 мМ Na-цитратного буфера, рН 4,8. После 30-60 мин инкубации при 50 °С добавляли 120 мкл раствора DNS и инкубировали при 95 °С в течение 5 минут. Затем 36 мкл образца разводили в 160 мкл H<sub>2</sub>O и измеряли оптическую плотность при 540 нм.

Активность амилазы оценивали по гидролизу крахмала. К 20 мкл культуральной жидкости добавляли 40 мкл 2% растворимого крахмала и 40 мкл 0,02 М PBS (фосфатный буфер), рН 6,9. После 15-30 мин инкубации при 28/37 °С к реакционной смеси добавляли 120 мкл раствора DNS и быстро инкубировали при 95 °С в течение 15 минут. Затем отбирали 36 мкл реакционной смеси добавляли к 160 мкл H<sub>2</sub>O и измеряли оптическую плотность при 540 нм.

Протеазную активность оценивали по гидролизу азоказеина, для чего к 300 мкл культуральной жидкости добавляли 750 мкл 100 мМ Трис-НСl буфера и 750 мкл 2% раствора азоказеина. Далее раствор перемешивали и инкубировали при температуре 37 °С в течение 30 мин. После этого отбирали аликвоту объемом 1 мл и добавляли к ней 1000 мкл ТХУ (трихлоруксусная кислота) и центрифугировали при 20000 об/мин в течение 10 мин. Далее отбирали 1 мл супернатанта и добавляли к 1000 мкл 500 мМ NaOH. Затем 36 мкл образца смешивали с 160 мкл H<sub>2</sub>O и измеряли оптическую плотность при 440 нм.

#### Результаты и обсуждение.

Проведена сравнительная характеристика активности внеклеточных гидролитических ферментов 4 штаммов *Fusarium spp.*, выделенных из ризосферы картофеля. Активность гидролаз исследовали в культуральной жидкости 7 суточных культур, выращенных глубинным методом (рис. 1). Показано, что исследуемые штаммы различаются по уровню накопления внеклеточных ферментов. Так, целлюлазная активность штаммов варьировала в диапазоне 0,43–1,18 ед/мл. Максимальную целлюлазную активность (1,18 ед/мл) проявил штамм S101. Уровень амилазной активности в культуральной жидкости изолятов также различался и варьировал в диапазоне 0,18–3,46 ед/мл. Максимальная амилазная активность (3,46 ед/мл) выявлена в среде культивирования штамма S83. Уровень активности эндоглюканазы в среде культивирования исследуемых штаммов не превышал 0,47–0,625 ед/мл. Максимальное значение 0,625 ед/мл имел штамм S84. Следует отметить, что уровень протеолитической активности микромицетов варьировал в диапазоне 1,46–5,9 ед/мл. Максимальное значение (5,9 ед/мл) было обнаружено в среде культивирования штамма S83, который также проявлял максимальную амилазную активность (рис.). Наименее активным по внеклеточным ферментам оказался штамм S86. Целлюлазная и амилазная активности микромицетов *Fusarium* могут быть важны для расщепления целлюлозы и крахмала при развитии фузариозной сухой гнили клубней.

Таким образом, исследуемые штаммы *Fusarium* значительно

различаются по активности внеклеточных гидролаз. Наиболее активным продуцентом гидролаз оказался штамм S83, который секретировал в среду все исследуемые ферменты на достаточно высоком уровне и может рассматриваться как потенциальный продуцент практически важных ферментов.

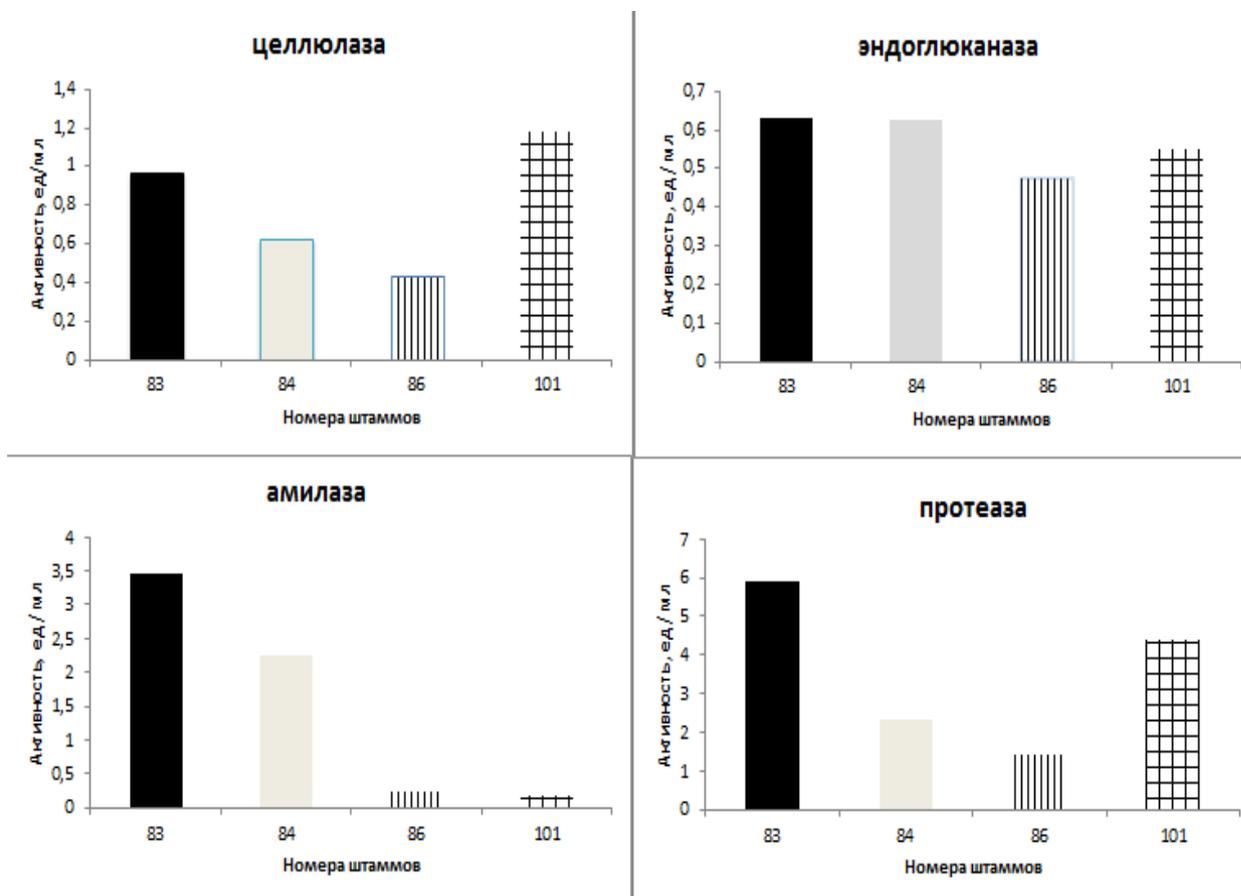


Рисунок. Активность внеклеточных гидролитических ферментов *Fusarium spp.*, выделенных из ризосферы картофеля.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-316-90028.

### Список использованной литературы

1. Курченко И.Н. Амилолитическая активность штаммов *Fusarium* LK: FR. и *Alternaria* NEES: FR. / И.Н. Курченко // Микробиологический журнал, 2012. – Т. 4. – С. 966.
2. Philippidis G. P. Cellulase Production Technology Evaluation of Current Status // Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production, 1994. – V. 566. – P. 188-217.
3. Sukumaran Rajeev K. Microbial cellulases – Production, applications and challenges / Singhania, Reeta RaniPandey // NISCAIR Online Periodicals Repository, 2005. – V. 64(11). – P. 832-844.

## ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВ

Оценка качества почвы в настоящее время приобретает важное значение для сохранения плодородия и развития большинства растений. Засоление почвы – это динамичный процесс, требующий постоянного контроля и учета. Приблизительно 25% всех почв земли в мире засолено, из них ежегодно 1.5 млн. гектаров становятся непригодными для применения. Засоление земель приводит к негативным последствиям, таким как снижение продуктивности агро- и биоценозов, падение биоразнообразия и, как следствие этого, к огромным экономическим потерям [1]. Различают почвы с щелочным засолением при  $\text{pH} > 8,5$  (хлоридно-содовое, содово-хлоридное, сульфатно-содовое, содово-сульфатное, сульфатно-хлоридно-гидрокарбонатное) и нейтральным засолением при  $\text{pH} < 8,5$  (хлоридное, сульфатно-хлоридное, хлоридно-сульфатное, сульфатное). При оценке засоления почв проводят качественное определение анионов ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) и катионов ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) легкорастворимых солей. Негативное воздействие легкорастворимых солей проявляется в увеличении осмотического давления почвенной влаги, снижении её доступности для растений, вследствие чего нарушаются соотношения элементов минерального питания [2]. По степени убывания угнетающего действия на растения можно расположить соли в ряд по:  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{NaHCO}_3 \rightarrow \text{NaCl} \rightarrow \text{NaNO}_3 \rightarrow \text{CaCl}_2 \rightarrow \text{Na}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{MgCl}_2 \rightarrow \text{MgSO}_4$  [3].

Материалы и методы. Материалом для статьи послужили научные публикации. В статье используются такие теоретические методы как: классификация, сравнительный анализ и анализ научной литературы. Также описаны основные методы оценки засоления почв.

Результаты и обсуждения. Солевой стресс влечет за собой изменения различных физиологических и метаболических процессов в зависимости от тяжести и продолжительности стресса и в конечном итоге угнетает растениеводство. Первоначально засоление почвы подавляет рост растений в виде осмотического стресса, за которым затем следует ионная токсичность. В начальные фазы засоления снижается водопоглощающая способность корневых систем и ускоряется потеря воды из листьев из-за осмотического стресса высокого накопления солей в почве и растениях, поэтому засоление также рассматривается как гиперосмотический стресс [4].

Осмотический стресс в начальной стадии солёности вызывает различные физиологические изменения, такие как нарушение мембран, дисбаланс питательных веществ, ухудшение способности к детоксикации активных форм кислорода (АФК), различия в антиоксидантных ферментах и снижение фотосинтетической активности. Одним из наиболее пагубных последствий засоления является накопление ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в тканях растений, подвергшихся воздействию почв с высокими концентрациями

NaCl. Негативное влияние засоления на растения связано с высоким осмотическим давлением почвенных растворов, накоплением ионов  $\text{Na}^+$  и подкислением апопласта. Это приводит к окислительному стрессу, что в дальнейшем приводит к нарушению деления и роста клеток в зоне растяжения корня, изменениям в работе ферментов биосинтеза ключевых компонентов клеточной стенки.

Высокая концентрация  $\text{Na}^+$  ингибирует поглощение ионов  $\text{K}^+$ , которые являются важными элементами роста и развития, что приводит к снижению продуктивности и даже может привести к гибели растений [5]. В ответ на солевой стресс усиливается выработка активных форм кислорода (АФК). Вызванное соленостью образование АФК может привести к окислительным повреждениям различных клеточных компонентов, таких как белки, липиды и ДНК, нарушая жизненно важные клеточные функции растений [6]. Наиболее известным методом оценки засоленности почв является анализ состава водной вытяжки 1:5 и почвенных растворов [7]. В международной практике широко используются критерии оценки по удельной электропроводности фильтратов из паст, разработанные USDA Salinity Laboratory. В последнее время были разработаны новые методы и методики обработки данных для оценки и мониторинга засоления почв. Электромагнитный индукционный датчик (ЭМ) стал первым выбором для измерения солености почвы.

Данная технология измеряет на месте кажущуюся объемную электропроводность грунта (ЭКа), которая тесно связана с засолением почвы. Основным методом оценки направленности современных процессов соленаккумуляции в почвах является почвенная солевая съемка как источник получения оперативной и долговременной информации о показателях засоления почв. Полученную информацию используют для создания баз данных и карт засоления почвы. Предполагается, что вся информация, которая может быть использована в дальнейшем, вводится и хранится в базе данных и затем используется для оценки, планирования и принятия решений на соответствующих этапах работы [8].

### Список использованной литературы

1. Ковда В. А. Основы учения о почвах / В.А. Ковда. – М. : Наука, 1973. – Кн. 1. – 447 с.
2. Минашина Н. Г. Солеотдача // Мелиоративная энциклопедия. – М. : Росинформагротех, 2004. – Т. 3. – С. 196.
3. R. Munns and M. Tester, «Mechanisms of salinity tolerance,» *Annual Review of Plant Biology*, vol. 59, pp. 651–681, 2008.
4. P. Ahmad and M. N. V. Prasad, *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*, Springer, New York, NY, USA, 2012.
5. J. L. Zhang and H. Shi, “Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance,» *Photosynthesis Research*, vol. 115, pp. 1–22, 2013.

6. J.-K. Zhu, "Regulation of ion homeostasis under salt stress," *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 6, no. 5, pp. 441–445, 2003.

7. Хитров Н. Б. Система показателей для краткой характеристики засоленных почв // *Почвоведение*, 1986. – № 4. – С. 67–79.

8. Конюшкова М.В. Цифровое картографирование почв солонцовых комплексов Северного Прикаспия. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 316 с.

*Ефимов В.Я., Понамарев В.С.*

## **КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ЛЕЧЕНИЯ КОМПЛЕКСНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТА ЭССЕНЦИАЛЕ® Н**

На сегодняшний день патология печени является одной из частых заболеваний, встречающихся среди мелких животных, в т.ч. кошек[2]. Большое количество некачественного корма, избыток которого встречается на рынке, ежедневно преподносится хозяевами своим животным. Отсутствие информации о правильности питания и качестве кормов приводит к серьёзным проблемам питомцев. Печень - это важный орган животного и человека.[4] Она является фильтром, удаляет из организма избыток гормонов и витаминов, обеспечивает энергетические потребности организма, участвует в процессах кроветворения и синтез желчных кислот и билирубина. Если печень перестаёт выполнять возложенные на неё функции, из-за её повреждения, это приводит к необратимой гибели животного. Именно для восстановления целостности клеток печени и был создан препарат – Эссенциале® Н.

Эссенциале® Н – это препарат, содержащий фосфатидилхолин из соевых бобов высушенной субстанции, содержащий 93% холина. Фосфолипиды эссенциале являются основными элементами структуры оболочки клеток и органелл. Они соответствуют по своей химической структуре эндогенным фосфолипидам, но превосходят их по активности за счет наибольшего содержания в них полиненасыщенных (эссенциальных) жирных кислот[3]. Встраивание этих высокоэнергетических молекул в поврежденные участки, клеточных мембран гепатоцитов восстанавливает целостность печеночных клеток, что способствует их регенерации.

Цель: Выявление эффективности действия препарата «Карбоксилаза».

Материалы и методы: стандартные клинические протоколы [1].

Результаты: В клинику 11.01.2021 обратилась хозяйка кота. Из анамнеза: животное сильно истощено, видимые слизистые оболочки и кожа животного насыщено желтого цвета. При пальпации брюшная стенка умеренно напряжена, в правом подреберье печень выступает за края реберной дуги. Для подтверждения диагноза было проведено взятие крови для биохимического и общего клинического анализа крови. По результатам анализа: АЛТ (аланинаминотрансфераза) – 489 Ед/л, при норме 8 - 55 Ед/л;

АСТ (аспартатаминотрансфераза) – 307,50 Ед/л, при норме до 80 Ед/л; билирубин общий – 61,35 мкмоль/л, вместо 2,0 – 12,00 мкмоль/л; альбумин – 21,00 г/л, вместо 25 – 39 г/л; щелочная фосфотаза общая – 284,70 Ед/л, при норме – 5 - 55 Ед/л. Из общего анализа крови установлено: лейкоциты  $79,39 \times 10^9$ /л, что превышало норму 5,50 – 19,50  $\times 10^9$ /л; эритроциты были понижены –  $3,92 \times 10^{12}$ /л, вместо 4,60 – 10,00  $\times 10^{12}$ /л; гемоглобин был ниже нормы – 63,00 г/л, при норме 93,00 – 153,00 г/л; гематокрит составил 17,00%, что ниже нормы 28,00 – 49,00%. На основании всех этих данных, и данных УЗИ, подтвердились диагнозы: холангит, холецистит и гепатит.

Врачом принято решение о назначении пациенту Эссенциале® Н, в связке с 5% раствором глюкозы и 0,9% раствором натрия хлорида. Эссенциале® Н был назначен в дозе 2,5 мл, к которым добавлялось 7,5 мл 5% раствора глюкозы. Этот раствор вводился внутривенно, 2 раза в сутки, кусом на 10 дней. Также, медленно капельно в течение суток внутривенно влилось 250 мл 0,9% раствора натрия хлорида.

После двух дней назначенного лечения были сданы повторные анализы. Биохимия: АЛТ (аланинаминотрансфераза) – 345,70 Ед/л, при норме 8 - 55 Ед/л; АСТ (аспартатаминотрансфераза) – 155,60 Ед/л, при норме до 80 Ед/л; билирубин общий – 56,20 мкмоль/л, при норме 2,0 – 12,00 мкмоль/л; альбумин – 24,00 г/л, при норме 25 – 39 г/л. Согласно данным этого анализа, стало заметно действие назначенного препарата Эссенциале® Н. Основываясь на этом, было решено продолжить лечение, как и планировалось.

Спустя 10 дней были сданы новые анализы. Биохимия: АЛТ (аланинаминотрансфераза) – 105,30 Ед/л, при норме 8 - 55 Ед/л; АСТ (аспартатаминотрансфераза) – 67,50 Ед/л, при норме до 80 Ед/л; билирубин общий – 22,29 мкмоль/л, вместо 2,0 – 12,00 мкмоль/л; альбумин – 28,40 г/л, вместо 25 – 39 г/л. Общий анализ крови: лейкоциты  $31,90 \times 10^9$ /л, при норме 5,50 – 19,50  $\times 10^9$ /л; эритроциты –  $5,10 \times 10^{12}$ /л, при норме 4,60 – 10,00  $\times 10^{12}$ /л; гемоглобин – 84,00 г/л, при норме 93,00 – 153,00 г/л; гематокрит составил 25,30%, при норме 28,00 – 49,00%. Основываясь на данных анализа крови и осмотра, было принято решение выписать кота для продолжения лечения дома.

Выводы: Приняв во внимание все вышеизложенные факты, можно с уверенностью сказать, что препарат Эссенциале® Н полностью справился со своей задачей, возложенной фармакологами. Он нормализовал состояние животного, пропал насыщено желтый цвет слизистых оболочек и кожи, кот стал чувствовать себя лучше, чем во время поступления в клинику. Понять это возможно ознакомившись с данными анализов, которые предоставлены выше. В них хорошо описаны изменения печёночных показателей в лучшую сторону, чем при первом осмотре.

### Список использованной литературы

1. Герасимов С.В. Анализ нормативных документов, регламентирующих требования к проведению доклинических исследований ветеринарных препаратов / С. В. Герасимов, В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2020. – № 3. – С. 27-29. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.3.27.
2. Бельская В. А. Фармакотерапия острого и хронического холангиогепатита у кошек с применением препарата Тиотриазолин / В.А. Бельская, Н.Г. Курочкина // Молодежь и наука, 2017. – № 6. – С. 20.
3. Понамарев В.С. Влияние препарата «Гепатон» на реакции перекисного окисления липидов / В.С. Понамарев, О.С. Попова // Международный вестник ветеринарии, 2020. – № 2. – С. 112-115. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.2.112.
4. Андреева Н.Л. Фармакокоррекции гепатопатий различной этиологии у крупного рогатого скота: методические рекомендации / Н. Л. Андреева, А. М. Лунегов, А. В. Яшин [и др.]. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. – 19 с.

*Ефимов В.Я., Понамарев В.С.*

### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИИ РОДОВОГО ПРОЦЕССА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТА ОКСИТОЦИНА

Во все времена заводчики ставили в приоритет разведение породистых собак с идеальным генотипом и фенотипом. Для достижения своих целей они тратят все средства, но иногда встречаются ситуации, которые препятствуют этому. Ярким примером является проблемы с родами у животных [2]. Животное не может нормально родить, что автоматически не позволяет ему выполнить функцию, возложенную природой. Специально для помощи во время родов и был разработан гормональный препарат – Окситоцин.

Окситоцин – это гормональный препарат, который фармакологически и клинически схож с эндогенным окситоцином задней доли гипофиза. Он взаимодействует с окситоциноспецифическими рецепторами миометрия матки [3].

Цель: Выявление эффективности действия препарата «Карбоксилаза».

Материалы и методы: стандартные клинические протоколы [1].

Результаты: 11. 12. 2020 в клинику поступила собака породы йоркширский терьер. Владелец животного жаловался на то, что собака не может родить. Из анамнеза было установлено: вязка была проведена 08. 10. 2020, за все время наблюдения за беременностью проблем не наблюдалось. Хозяйка сказала, что первый щенок смог выйти самостоятельно, но выход последующих был затруднён. Во время проведения осмотра стало понятно, что у матки имеется слабый тонус, его было недостаточно для выведения щенков самостоятельно. Действовать нужно было сразу, замедление привело

бы к смерти щенков, а нахождение их в матке к интоксикации организма и смерти животного.

Врачом принято решение о незамедлительном применении Окситоцина. В одной ампуле препарата содержится 10 МЕ/мл. Согласно инструкции, собаке требуется 5 – 10 МЕ/мл, основываясь на породе, размере и ситуации. На основании этих факторов было введено 4 МЕ/мл, а именно 0.4 мл, ведь собака имела незначительный рост и вес, вводился препарат постепенно, внутримышечно. Через 4 минуты, после введения препарата, стало заметно сильное миотоническое действие матки. Чувствовался её сократительный эффект. Данное восстановление тонуса помогло собаке самой справиться с родовой деятельностью, изредка прибегая к помощи ветврача.

Во время применения препарата были заметны следующие изменения организма: увеличенный тонус матки, временно ухудшенное кровоснабжение матки, повышение амплитуды и продолжительность мышечных сокращений привели к расширению и сглаживанию зева матки.

После нескольких часов родов, завершившихся удачным исходом, действие препарата подошло к концу, помимо тонуса матки, он также вызвал сокращение миоэпителиальных клеток, которые прилежат к альвеолам молочной железы, тем самым улучшая выделение грудного молока для уже появившихся на свет щенков.

Очевидно, что за всё время своего использования, препарат показал себя с лучшей стороны. Все манипуляции, с его участием, прошли без отрицательных влияний на организм. Его возможность стимуляции родовой деятельности при проблемах с миометрием матки, а также сокращение миоэпителиальных клеток, прилежащих к альвеолам молочной железы, позволяет помочь животному, не способному родить без помощи.

### **Список использованной литературы**

1. Герасимов С.В. Анализ нормативных документов, регламентирующих требования к проведению доклинических исследований ветеринарных препаратов / С. В. Герасимов, В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2020. – № 3. – С. 27-29. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.3.27.
2. Карагичев Е. В. Сравнительные методы родовспоможения собакам с патологическими родами / Е. В. Карагичев // Наука и молодежь: новые идеи и решения : Материалы XII Международной научно-практической конференции молодых исследователей, Волгоград, 14–16 марта 2018 года. – Волгоград: Волгоградский государственный аграрный университет, 2018. – С. 84-85.
3. Тимошенко Д. И. Медико-биологические основы функционирования окситоцина и вазопрессина в рамках нейродефектологии / Д. И. Тимошенко // Медработник дошкольного образовательного учреждения, 2019. – № 6. – С. 24-27.

*Иткина Д.Л., Сулейманова А.Д., Сокольникова Л.В.*  
**ВЛИЯНИЕ ШТАММОВ РОДА *PANTOEA* НА РОСТ И  
РАЗВИТИЕ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ**

Население планеты с каждым годом увеличивается. Соответственно, повышается и спрос на продукты питания. Но не всегда год удается урожайным. Для поддержания уровня урожайности сельском хозяйстве применяют различные химикаты [4]. Химические удобрения в большом количестве оказывают вредное влияние на окружающую среду. Чтобы этого не допустить, химикаты заменяют на биологические удобрения. Они состоят из живых микроорганизмов и безопасны для окружающей среды. Биоудобрения могут оказывать положительное влияние на рост и развитие растений, тем самым увеличивая урожайность. Данное явление обосновывается различными механизмами.

Наиболее распространенным является выработка фитогормонов – ауксинов. Среди них наиболее частой формой является индол-3-уксусная кислота (ИУК) [2]. ИУК проникает в клетки растений и активирует протонную помпу. В результате ее работы происходит закисление матрикса клеточных стенок и усиление активности кислых гидролаз. Эти факторы являются необходимыми для роста клеток [1]. Известно, что бактерии рода *Pantoea* способны увеличивать рост растений, в том числе за счет выработки ИУК [3]. Поскольку не существует универсальных бактерий, обладающих различными механизмами увеличения роста растений, важно открывать новые штаммы.

Актуальность заключается в поиске новых бактерий, способствующих росту растений.

Целью данной работы было выявить влияние штаммов рода *Pantoea* на рост и развитие семян пшеницы. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Измерить и сравнить длины корней семян пшеницы при обработке культуральной жидкостью и водой.
2. Измерить и сравнить длины листьев семян пшеницы при обработке культуральной жидкостью и водой.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили на двух сортах пшеницы: «Тулаевская» и «Злата». Отобранные семена обрабатывали 70% спиртом, а затем несколько раз стерилизующим раствором, состоящим из гипохлорита натрия, дистиллированной воды и Тритона X-100 в соотношении 5 мл : 5 мл : 50 мкл, и промывали дистиллированной водой. Далее семена инкубировали с исследуемыми бактериями 2 часа. В контроле семена замачивали в дистиллированной воде. После семена раскладывали на фильтровальную бумагу в чашке Петри. Семена инкубировали при комнатной температуре. Семена своевременно поливали культуральной жидкостью, а контрольные образцы – дистиллированной водой. Далее производили замеры длин корней на 72, 96, 144 и 264 часы роста семян.

Результаты исследования и обсуждение. К 264 часу роста семян было обнаружено, что корни контрольных семян были длиннее, чем корни семян, обрабатываемых культуральной жидкостью. Данное явление можно объяснить следующим образом. При обработке культуральной жидкостью корни получают питательные вещества в виде вторичных метаболитов бактерий и питательной среды, на которой они растут. Благодаря этому корням нет необходимости удлиняться в поиске питательных веществ. Поэтому все силы растение тратит сразу на рост листьев. Ведь именно от длины и массы наземной части растения зависит урожайность пшеницы.

К 264 часу листья семян, обрабатываемых культуральной жидкостью, были длиннее листьев контрольных образцов в среднем на 48%. Можно предположить, что это происходило как за счет более быстрой поставки питательных веществ корнем, так и за счет того, что при поливе семян культуральной жидкостью в них повышался уровень ИУК, которая способствовала быстрому росту листьев.

Выводы. При обработке семян культуральной жидкостью было замечено, что семена имеют меньшие по размерам корни, нежели контрольные, но большие листья, что может служить более высокому уровню урожайности пшеницы. Таким образом, обработка семян пшеницы бактериями рода *Pantoea* положительно влияет на рост и развитие семян пшеницы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-38-90208.

#### Список использованной литературы

1. Полевой В. В. Физиология растений / В. В. Полевой. – М. : Высшая школа, 1989. – 40с. – ISBN 5-06-001604-8.
2. Olanrewaju, O. S. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria [Text] / O. S. Olanrewaju, B. R. Glick, O. O. Babalola // World J Microbiol Biotechnol., 2017. – V.33. – P. 197.
3. Tahir, M. Inoculation of *pqqE* gene inhabiting *Pantoea* and *Pseudomonas* strains improves the growth and grain yield of wheat with a reduced amount of chemical fertilizer [Text] / M. Tahir, M. A. Naeem, M. Shahid, U. Khalid, A. B. U. Farooq, N. Ahmad, I. Ahmad, M. Arshad, A. Waqar // Journal of Applied Microbiology, 2020. – V.129. – P. 575-587.
4. Vasseur-Coronado, M. Selection of plant growth promoting rhizobacteria sharing suitable features to be commercially developed as biostimulant products [Text] / M. Vasseur-Coronado, H. D. du Boulois, I. Pertot, G. Puopolo // Microbiological Research. 2021. – V.245. – P. 126672.

*Корнейчук П.В., Кульгавеня А.Д.,  
Ильчук И.А., Никандров В.Н.*

## **О СПОСОБНОСТИ МИЦЕЛИАЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ *PLEUROTUS OSTREATUS* ПРОДУЦИРОВАТЬ ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕОЛИЗА**

Одним из генеральных механизмов регуляции метаболических и физиологических процессов клетки является протеолиз. Регуляция же процессов протеолиза представляет собой самостоятельную проблему, далекую от полной ясности. Тем не менее, принято считать, что одним из путей его регуляции является взаимодействие протеолитических энзимов со специфическими белками-ингибиторами протеиназ. Таковые белки обнаружены во многих живых организмах, включая и грибы.

Так, систематические исследования съедобных базидиомицетов Краснодарского края, показало, что их водные экстракты содержат (химо)трипсиноподобные, эластолитические, кислые и щелочные протеиназы, а также ингибиторы трипсина и химотрипсина. Активность ингибиторов трипсина обнаружена во всех исследованных видах *Boletales*, *Agaricales*, *Russulales* и *Aphyllphorales*. Максимальная активность ингибиторов трипсина выявлена у видов *Boletales*, а ингибиторов химотрипсина – у вида *Armillaria mellea* порядка *Agaricales* [3]. Подобные материалы в отношении гриба вешенки обыкновенной – *Pleurotus ostreatus*, в частности, ее мицелиальной культуры, в литературе отсутствуют.

Цель настоящей работы – раскрыть возможность продуцирования в культуральную жидкость мицелием *P. ostreatus* ингибиторов протеиназ.

Материалы и методы. В работе использовали желатин (Fluka, Германия), бактоагар (Melford, США), пепсин (Sigma, США), трипсин (Alfa Aesar, США) картофель сорта «Скарб», картофельный крахмал и сахарозу производства Республики Беларусь. Неорганические соли были квалификации «чда» или «хч» производства стран СНГ.

Исследования выполнены на «диком» штамме *P. ostreatus*, выделенном в 2014 г. к.б.н. доцентом Е.О. Юрченко из плодовых тел на тополе в г. Минске. Мицелий гриба культивировали на качалке модели WiseShakeSHO-2D при температуре 27 °С, режиме перемешивания 70 об/мин. в течение 14 суток на трех видах питательных сред: картофельно-сахарозной (образец № 1), среде Чапека с картофельным крахмалом (образец № 2) и среде Чапека с сахарозой (образец № 3). Образцы культуральной жидкости для исследований отбирали при 4 °С.

Протеолитическую активность культуральной жидкости определяли по расщеплению желатина в тонком слое агарового геля как подробно описано ранее [4]. В качестве растворителя при приготовлении белок-агаровых пластин использовали 0,15 М раствор NaCl pH 7,4, а для приготовления растворов энзимов – 0,2 М ацетатный буфер pH 1,5 и 0,05 М трис-HCl буфер pH 7,4 для пепсина и трипсина соответственно. В работе использовали растворы протеиназ с концентрацией 0,3 мг/мл. Образцы культуральной

жидкости гриба предварительно доводили до pH 1,5 или 7,4 и смешивали с растворами энзимов в соотношении 1:1.

Все исследования выполнены восьмикратно. Результаты их обработаны статистически стандартными методами в программе Microsoft Excel-2016.

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что образцы культуральной жидкости мицелиальной культуры *P. ostreatus* сами обладают желатинолитической активностью при обоих значениях pH (таблица).

Таблица

Влияние добавления культуральной жидкости мицелиальной культуры *Pleurotus ostreatus* на желатинолитическую активность (мм<sup>2</sup> зон лизиса белка субстрата) пепсина и трипсина, ( $n = 8$ )

Исследуемый образец	Площадь зон лизиса, мм <sup>2</sup>
Культуральная жидкость (КЖ) pH 1,5	
образец № 1	233,3 ± 7,5
образец № 2	55,0 ± 3,5
образец № 3	52,4 ± 3,4
Пепсин	177,9 ± 15,0
+ КЖ, образец № 1	190,3 ± 16,0
+ КЖ, образец № 2	147,1 ± 8,5
+ КЖ, образец № 3	126,5 ± 8,9
Культуральная жидкость (КЖ) pH 7,4	
образец № 1	69,9 ± 3,9
образец № 2	81,9 ± 5,0
образец № 3	50,1 ± 5,4
Трипсин	615,0 ± 9,3
+ КЖ, образец № 1	653,9 ± 26,0
+ КЖ, образец № 2	430,0 ± 8,7
+ КЖ, образец № 3	347,0 ± 12,0

Ранее мы сообщали, что при росте мицелия вешенки на картофельно-сахарозной среде в культуральной жидкости обнаруживается желатинолитическая активность в зоне pH 2,8–11,0, чувствительная к отдельным группоспецифическим ингибиторам протеиназ [2]. Оказалось, что желатинолитическая активность проявляется и при более низком значении pH – 1,5. Более того, использование для культивирования мицелия питательных сред менее богатых по компонентному составу вело к уменьшению урожая биомассы (не показано), снижению протеолитической активности при pH 1,5, но не при pH 7,4.

Исследования показали, что при росте на картофельно-сахарозной среде в культуральную жидкость мицелий продуцирует субстанции,

подавляющие активность пепсина (сумма протеолитической активности пепсина + образца № 1 на 54% выше, чем их смеси), но не трипсина.

На менее богатых по компонентному составу питательных средах – среде Чапека с крахмалом или сахарозой в культуральную жидкость мицелием вешенки продуцируются субстанции, подавляющие активность пепсина на 36 и 45%, а активность трипсина – на 38 и 48%.

В настоящее время пока нельзя что-либо сказать о природе этих ингибирующих протеиназы субстанций. Остается открытым вопрос имеют ли они белковую природу. Далее, неясна также физиологическая роль подобных субстанций в культуральной жидкости при росте мицелия, поскольку «целесообразность» регуляции активности экстрацеллюлярных протеиназ мицелия также неясна.

Заключение. Итак, изложенные материалы свидетельствуют о том, что и на обедненных по компонентному составу питательных средах мицелиальная культура *Pleurotus ostreatus* продуцирует экстрацеллюлярные протеиназы, желатинолитическая активность которых при pH 7,4 не уступает таковой при росте гриба на обогащенной среде неопределенного состава. Более того, в культуральную жидкость выделяются субстанции, подавляющие активность пепсина и трипсина. Причем только на менее богатых по составу средах проявлялась трипсин-ингибиторная активность. Выяснение природы субстанций ингибиторной природы требует проведения дальнейших исследований.

### Список использованной литературы

1. Никандров В.Н. Нетривиальные проявления протеолиза на молекулярном и клеточном уровнях, их фундаментальное и прикладное значение / В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова // Новости медико-биол. наук, 2010. – № 3. – С. 14–28.
2. Кульгавеня А.Д. Протеолитическая активность мицелиальной культуры гриба вешенка обыкновенная *Pleurotus ostreatus* при глубинном культивировании / Вестник Полесского государственного университета. Сер. Природоведения // А.Д. Кульгавеня, В.Н. Никандров, 2020. – № 1. – С. 12–23.
3. Гзогян Л.А. Протеолитические ферменты и их ингибиторы в высших грибах / Л.А. Гзогян // Автореф. канд. биол.н. Краснодар, 2005.
4. Никандров В.Н. Методы исследования протеолиза. Глава 5 / Современные проблемы биохимии. Методы исследований // В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова. – Минск: Выш. шк. – 2013. – С. 132–157.

*Красков Д.А., Понамарев В.С.*

### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ЛЕЧЕНИЯ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТА КАРБОКСИЛАЗЫ

Мочекаменная болезнь – наиболее частая проблема, с которой обращаются в ветеринарные клиники, главные причины которые вызывают

МКБ являются: много солей в жидкости, несбалансированное питание, недостаток витаминов, ожирение, гормональный сбой и т.д. [3].

Одно из осложнений мочекаменной болезни является Хроническая почечная недостаточность – это медленно прогрессирующая, характеризующаяся утратой функции почек заболевание, обусловленное постепенной гибелью нефронов с замещением их соединительной тканью, что приводит к сморщиванию почек [2].

Успех в лечение данного заболевания напрямую зависит от своевременного обращения в ветеринарную клинику. Лечение происходит комплексно, а именно: медикаментозно и назначение специальной диеты.

Кокарбоксилаза – кофермент тиамина, применяется в комплексной терапии печёночной и почечной недостаточности, диабетической прекомы и комы, диабетического кетоацидоза, хронической сердечной недостаточности и нарушениях сердечного ритма.

Цель: выявление эффективности действия препарата «Карбоксилаза».

Материалы и методы: стандартные клинические протоколы [1].

Результаты: 21 января в клинику поступило животное – кот пяти лет, беспородный, некастрированный. Жалобы: полидипсия, учащенное мочеиспускание, снижение веса, постоянна рвота, апатия животного. После сбора анамнеза и клинического осмотра были назначены доп. исследования: биохимическое исследование крови и УЗИ почек.

По результатам биохимического исследования крови было выявлено: креатинин составил 653, 48 мкмоль/л (выше нормы на 459 мкмоль/л), мочевины- 42,46 ммоль/л (выше нормы на 34,46 ммоль/л), глюкоза 14,6 ммоль/л (выше нормы на 7,39 ммоль/л). На УЗИ ХПН была подтверждена (почка маленького размера, гиперэхогенна, сглажена кортикомедулярная дифференциация, паренхима истончена).

Медикаментозное лечение состояло из внутривенного введения лекарственных средств (физ.р-р 50 мл, метрогил 20 мл, дюфалайт 5 мл), внутримышечного введения (кокарбоксилаза 0,5 мл, В<sub>12</sub> 0,5 мл, дексаметазон 0,5 мл)- курс 5 дней, а также назначение корма Hills Prescription Diet k/d kidney care, и лекарственное средство ипакитине. Спустя 5 дней на повторном приеме было заметно, что состояние кота улучшилось (пропала полидипсия, вес перестал снижаться, прекратилась рвота и т.д.), медикаментозное лечение было приостановлено, диета осталась та же и продолжалась подача ипакитине, спустя 2 недели после первичного обращения был взят повторный биохимический анализ крови в котором отчетлива была заметна положительная тенденция (креатинин- 305,64 мкмоль/л, мочевины 14,73 ммоль/л, глюкоза 7,36 ммоль/л). На момент написания статьи состояние кота стабильное и удовлетворяет врачей.

Препарат Кокарбоксилаза- это препарат, который хорошо показал себя в составе комплексной терапии при ХПН, имеет высокий терапевтический эффект и при правильной дозировке не имеет побочных эффектов.

### Список использованной литературы

1. Герасимова С.В. Анализ нормативных документов, регламентирующих требования к проведению доклинических исследований ветеринарных препаратов / С.В. Герасимов, В.С. Понамарев, Н.Л. Андреева [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2020. – № 3. – С. 27-29. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.3.27.
2. Головаха В.И. Изменения активности энзимов в сыворотке крови кошек при хронической почечной недостаточности / В.И. Головаха, Е.В. Мостовой, В.И. Козий [и др.] // Ветеринарный журнал Беларуси, 2020. – № 1(12). – С. 28-32.
3. Шлегель Н.В. Мочекаменная болезнь кошек в г.Омске / Н. В. Шлегель, А. И. Зейбель, В. П. Дорофеева, М. В. Копылович // Электронный научный журнал, 2015. – № 2(2). – С. 59-65. – DOI 10.18534/enj.2015.02.59.

*Красков Д.А., Понамарев В.С.*

### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ЛЕЧЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТА КАНИНСУЛИН

С каждым годом в России, учащаются случаи нахождения сахарного диабета у животного, в большинстве случаев, это связано с тем, что хозяева не серьезно относятся к рациону своего животного (кормят «со стола», дают высокоуглеводные корма, корма из дешевого сегмента и т.д.) [3].

Сахарный диабет – хроническое заболевание, обусловленное абсолютной или относительной недостаточностью гормона островного аппарата поджелудочной железы- инсулина, данное заболевание сопровождается нарушением обмена веществ, гипергликемией, гликозурией и тд. Лечение данного заболевания проводится с помощью инсулинотерапии (напр. канинсулином) и назначение специальной диеты [2].

Канинсулин – это гормональный препарат для системного использования, в 1 мл канинсулина содержится 40 ЕД высокоочищенного свиного инсулина (30 % в виде аморфного цинкового инсулина и 70 % в виде кристаллического цинкового инсулина).

Цель: выявление эффективности действия препарата «Канинсулин».

Материалы и методы: стандартные клинические протоколы [1].

Результаты: 27 января в клинику поступил кот десяти лет, беспородный, со следующими жалобами: «три дня кот не ест и у него рвота после приёма пищи, обильно пьёт воду». При клиническом исследовании кота выяснилось, что у него ожирение (хозяин кота кормил его многими продуктами, которые противопоказаны животным), шерстный покров тусклый, специфический запах изо рта. С помощью глюкометра был проведен анализ на уровень глюкозы в крови, который составил 26,6 mmol/l. Был назначен специализированный корм при сахарном диабете (Hills Prescription Diet m/d Diabetes) и назначена капельница (50 мл физ. р-ра.) 1 раз в день, курс 5 дней, уровень глюкозы контролировать 3-4 раза в день, в течение 5 дней лечения

уровень глюкозы существенно не изменялся (24-26 mmol/l), стало понятно, что это инсулинозависимый сахарный диабет и началась инсулинотерапия, применялся препарат «канинсулин», в течение нескольких дней подбиралась правильная доза канинсулина, после подбора эффективной дозы уже через сутки уровень глюкозы стал 9,4 mmol/l, а через два дня вернулся в предел физиологической нормы (7,1 mmol/l). Так как у кота инсулинозависимый сахарный диабет, данный препарат придется колоть пожизненно. Состояние кота после назначения лечения, быстро пришло в норму, прекратилась рвота, обильно питьё воды, вес стал возвращаться к норме, специфический запах изо рта пропал.

Очевидно, что канинсулин показал свою высокую эффективность при лечении сахарного диабета, так как показатель глюкозы быстро пришел в норму. Каких-либо побочных эффектов не обнаружено.

### **Список использованной литературы**

1. Герасимов С.В. Анализ нормативных документов, регламентирующих требования к проведению доклинических исследований ветеринарных препаратов / С. В. Герасимов, В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии, 2020. – № 3. – С. 27-29. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.3.27.
2. Муравьева, Е.А. Аспекты дифференциальной диагностики сахарного диабета у домашних плотоядных животных / Е. А. Муравьева, Б. В. Уша // Ветеринарная патология, 2007. – № 2(21). – С. 212-214.
3. Кузнецов, Ю.А. Сахарный диабет мелких домашних животных / Ю.А. Кузнецов, М. А. Селюгин, И. К. Абдрахманов // Ветеринарная патология, 2006. – № 2(17). – С. 81-84.

### ***Николаева А.А., Лутфуллина Г.Ф., Марданова А.М.* ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА БАКТЕРИАЛЬНОГО РАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБИОТЫ СЛЕПОГО КИШЕЧНИКА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ**

Мясо цыплят-бройлеров составляет большую часть мясной промышленности, поэтому обеспечение здоровья и продуктивности бройлеров является ключевым аспектом этой отрасли. Бактериальное сообщество кишечника принимает активное участие в метаболизме, росте и пищеварении, что влияет на общее состояние здоровья птиц [Lu *et al.*, 2003]. Состав микробиоты кишечника зависит от условий выращивания, возраста, окружающей среды и генотипа. В условиях крупных птицеводческих предприятий инкубаторы и другая техника, подстилка, питье или корм становятся единственным источником микробиоты, что делает цыплят очень восприимчивыми к различным инфекциям [Rychlik, 2020]. В течение жизненного периода бройлеров (около 42 суток) происходят значительные изменения в бактериальном сообществе желудочно-кишечного системы,

которые связаны с модификацией пищеварительных функций и морфологии кишечника цыпленка. Самая высокая плотность бактерий обнаруживается в выростах слепой кишки, где питательные вещества в процессе пищеварения находятся в течение 12-20 часов. Понимание принципов колонизации кишечника цыплят бактериальной микробиотой важно для модулирования кишечной микрофлоры с целью улучшения переваривания корма и повышения продуктивности птицы [Lu *et al.*, 2003; Oakley *et al.*, 2014].

Целью работы был сравнительный анализ таксономического разнообразия микробиоты слепого кишечника цыплят-бройлеров Кобб-500 на разных стадиях роста.

Материалы и методы. Эксперимент *in vivo* проводили на 30 цыплятах кросса Кобб-500 в условиях фермерского хозяйства «Лачын». Цыплята получали в рационе стандартные для каждого возраста комбикорма *ad libitum*: Стартер, Рост, Финишер. Образцы содержимого слепой кишки 3 цыплят отбирались в стерильные фальконы после убоя на 7, 21, 28, 35 сутки. Суммарную ДНК выделяли с помощью набора QIAamp Fast DNA Stool Mini kit (QIAGEN, Germany) согласно инструкциям производителя. 16S рРНК ампликонный метагеномный анализ проводили с помощью высокопроизводительного секвенатора на платформе Illumina MiSeq (США). Данные секвенирования анализировали в программе «QIIME» версии 1.5.0.

Результаты: Анализ микробиоты слепого кишечника цыплят показал преобладание в слепой кишке представителей фил *Firmicutes* и *Bacteroidetes* на протяжении всего периода содержания, что соотносится с результатами других работ [Lu *et al.*, 2003; Tan *et al.*, 2019]. Количество фирмикут с 7 к 21 сут снижалось от 40.1% до 23.5% и снова увеличивалось на 35 сут до 59%. *Firmicutes* представлены главным образом сем. *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*, в меньшей степени *Lactobacillaceae* и *Acidaminococcaceae* (табл.). В анаэробизации среды важную роль играет род *Faecalibacterium* семейства *Ruminococcaceae*, доля которых от 8.2% на 7 сут уменьшается до 3.4%-2.4% (на 21-28 сут) и снова возрастает к 35 сут до 11.4%. Известно, что сохранение строго анаэробной среды, свободной от альтернативных акцепторов электронов, таких как азот или сульфат, предотвращает чрезмерный рост *E. coli* и *Salmonella* [Rychlik, 2020]. Род *Lactobacillus* филы *Firmicutes* (0.1% на 7 сутки) является эффективным ферментом углеводов, метаболизм которых приводит к снижению рН и ограничению роста других видов бактерий.

Таблица

Бактериальное разнообразие слепого кишечника цыплят на уровне семейства

Филум; Семейство	Доля в микробиоте, %			
	7 сутки	21 сутки	28 сутки	35 сутки
<i>Actinobacteria; Bifidobacteriaceae</i>	0.09	0.1±0.1	0.75±0.4	0.16±0.1
<i>Bacteroidetes; Bacteroidaceae</i>	43.24±2.	38.19±14.	41.68±7.	19.55±15.

	5	1	6	0
<i>Bacteroidetes; Porphyromonadaceae</i>	1.37±0.1	5.14±1.9	6.41±4.0	0.05±0.1
<i>Bacteroidetes; Prevotellaceae</i>	0	0.01±1.2	9.62±5.0	5.95±2.6
<i>Bacteroidetes; Rikenellaceae</i>	4.24±3.4	15.35±5.6	1.74±4.4	1.32±0.4
<i>Euryarchaeota; Methanobacteriaceae</i>	0	0	0	9.16±3.0
<i>Firmicutes; Lactobacillaceae</i>	0.23±0.1	0.1±0.1	0.01	0.11
<i>Firmicutes; Lachnospiraceae</i>	4.20±2.9	2.28±2.2	2.81±0.5	11.68±1.7
<i>Firmicutes; Ruminococcaceae</i>	30.05±5.1	18.85±6.7	13.44±3.8	33.59±
<i>Firmicutes; Acidaminococcaceae</i>	2.29±1.3	0.64±0.9	2.73±0.9	1.55±2.6
<i>Firmicutes; Veillonellaceae</i>	0.60±3.1	0.15±0.4	0.87±1.1	7.79±3.5
<i>Fusobacteria; Fusobacteriaceae</i>	0	0	1.05±4.6	0
<i>Proteobacteria; Sutterellaceae</i>	2.14±1.9	0.35±0.5	0.88±0.3	0.01±0.3
<i>Proteobacteria; Desulfovibrionaceae</i>	0	0	0±2.0	0.01
<i>Proteobacteria; Campylobacteraceae</i>	0	1.11±0.6	0.5±0.8	0.01
<i>Proteobacteria; Helicobacteraceae</i>	5.36±0.1	2.2±1.0	0	0.03±0.2
<i>Proteobacteria; Enterobacteriaceae</i>	0.05	0	0±0.3	0
<i>Verrucomicrobia; Verrucomicrobiaceae</i>	0	6.62±7.6	0.82±4.6	0.01±0.9

Наибольшая доля *Bacteroidetes* была представлена на 21 и 28 сутки (62.5% и 73.4%), тогда как на 35 сут их численность снизилась до 29%. Анализ на уровне семейства показал преобладание представителей *Bacteroidaceae*, в меньшей степени *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae* и *Porphyromonadaceae* (табл.1). Одна из основных функций слепой кишки - бактериальная ферментация неперевариваемых полисахаридов с образованием короткоцепочечных жирных кислот (SCFA). Эту роль выполняют представители *Firmicutes* (преимущественно сем. *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*) и *Bacteroidetes*. *Firmicutes* синтезируют бутират и пропионат, а *Bacteroidetes* в основном синтезируют пропионат,  $\alpha$ -амилазу,  $\alpha$ -1,2-маннозидазу и эндо-1,4- $\beta$ -маннозидазу [Polansky *et al.*, 2016].

Доля филы *Proteobacteria* снижалась от 8.2% на 7 сут до 0.7% на 35 сут. Строгие анаэробы, такие как *Sutterella* (2.1% и 0.8% на 7 и 28 сут соответственно) и *Parasutterella* (0.2% и 0.1% на 21 и 28 сутки), метаболизируют белки, аминокислоты и жиры. *Helicobacter* (максимальная численность на 7 сутки – 5.4%) и *Campylobacter* (1.1% на 21 сутки) также относятся к обычным членам микробиоты цыплят [Rychlik, 2020]. Численность *Actinobacteria* была максимальной на 28 сут (0.7%) и была представлена единственным семейством *Bifidobacteriaceae*. Известно, что *Actinobacteria*, *Clostridia* и *Bacteroidia* являются продуцентами ферментов,

участвующих в деградации ксилана и целлобиозы [Sergeant *et al.*, 2014]. Молекулярный водород, образующийся в процессе ферментации, при накоплении может ингибировать процесс продуцирования SCFA. Для эффективного брожения этот газ должен быть удален бактериями, потребляющими водород [Sergeant *et al.*, 2014]. В кишечнике эту роль могут выполнять археи филума *Euryarchaeota*, представленные семейством *Methanobacteriaceae*. Их численность достигает 9.2% на 35 сутки роста, что может объясняться большей потребностью молодых растущих бройлеров в SCFA.

Таким образом, структура микробиоты слепой кишки претерпевает серьезные изменения в процессе роста цыплят-бройлеров. Бактериальное разнообразие тесно связано с метаболизмом цыплят-бройлеров и их здоровьем. Влияя на формирование нормальной микробиоты можно улучшать производительность бройлеров.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-34-90130.

#### Список использованной литературы

1. Lu J., Idris U., Harmon B., Hofacre C., Maurer J.J., Lee M.D. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken / [Appl Environ Microbiol](#). 2003. V.69. P.6816-6824.
2. Oakley B., Lillehoj H., Kogut M., Kim W.H. The chicken gastrointestinal microbiome / *J. Microbiology letter*. 2014. V.360. I.2. P.100-112.
3. Polansky O., Sekelova Z., Faldynova M., Sebkova A., Sisak F., Rychlik I. Important Metabolic Pathways and Biological Processes Expressed by Chicken Cecal Microbiota / [Appl Environ Microbiol](#). 2016. V.82.N.5.P.1569–1576.
4. Rychlik I. Composition and Function of Chicken Gut Microbiota / [Animals \(Basel\)](#). 2020. V.10(1).N.103.
5. Sergeant C., Sergeant M.J., Constantinidou C., Cogan T.A., Bedford M.R., Penn C.W., Pallen M.J. Extensive Microbial and Functional Diversity within the Chicken Cecal Microbiome / *PLoS One*. 2014. V.9.N.3.
6. Tan Z. Luo L., Wang X., Wen Q., Zhou L., Wu K. Characterization of the cecal microbiome composition of Wenchang chickens before and after fattening / *PLoS One*. 2019. V.14. I.12.

**Орлов В.В., Лебедева И.Е., Ожимкова Е.В.**

#### **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОУДОБРЕНИЙ ДЛЯ КОМПОСТИРОВАНИЯ КОСТРЫ И ПОЛОВЫ ЛЬНА**

Ежегодно твердые лигноцеллюлозные отходы в огромных количествах сжигаются для очистки полей после сбора урожая, что не только производит к загрязнению воздуха продуктами горения, но негативно влияет на почву в местах сжигания. Однако у лигноцеллюлозных материалов есть огромный

потенциал для использования в различных отраслях промышленности в качестве исходного сырья для производства экологически чистых видов топлива, различных химических веществ и удобрений.

При современной интенсивной системе земледелия очень остро встает проблема сохранения плодородия почв с одновременным соблюдением норм использования удобрений. Из-за ужесточения требований нормативной документации в области использования агрохимикатов в России в последние годы резко сократилось внесение на поля удобрений. По данным Счетной палаты РФ внесение органических удобрений составляет 6–7% от научно обоснованной потребности [1].

Следовательно, актуальным направлением переработки лигноцеллюлозных отходов является использование экологически безопасных и экономически обоснованных биотехнологических методов [2,3].

Крупнотоннажным отходом при получении льняного волокна является костра – одревесневшие части стеблей прядильных растений, получаемые при их первичной обработке. На долю костры приходится 70% биомассы растений льна, соответственно, при современных объемах выращивания данной культуры, в среднем образуется до 40 ц отходов/га. По данным Тверьстата посевные площади льна-долгунца в хозяйствах всех категорий Тверской области составляют 4,4 тыс. га [12]. Следовательно, только в Тверской области ежегодно можно получать около 17 600 тонн костры льна. К сожалению, на сегодняшний день в РФ костра льна в промышленных масштабах не перерабатывается [5].

Повышение почвенного плодородия и урожаев сельскохозяйственных культур тесно связано с увеличением популяции агрономически полезной микрофлоры за счет использования удобрений, в которых высоки уровни содержания полезной микрофлоры и элементов питания. В целом, удобрения, полученные биотехнологическими приемами, способны сочетать в себе экологическую безопасность, высокую эффективность, низкую себестоимость и относительную простоту изготовления [6].

Традиционно при составлении смесей для биоконверсии растительных отходов используют помет и навозную жижу. Однако эти методы имеют существенные недостатки: крайне сложно, а порой невозможность точно рассчитать нормы внесения; сильный неприятный запах, из-за которого такое удобрение нельзя использовать на полях, расположенных вблизи населенных пунктов, возможное загрязнение подземных вод и т.д.

Следовательно, при реализации биоконверсии лигноцеллюлозного сырья эффективно использовать «ЭМ»-препараты (effective microorganisms) – представляющие собой сообщества тщательно подобранных агрономически полезных почвенных микроорганизмов, выделенных из естественной природной среды и не содержащих генетически модифицированную микрофлору. В современный «Список пестицидов и агрохимикатов...» [7] вошло 14 зарегистрированных видов бактериальных удобрений, таких как

«Азотовит», «Бактофосфин», «Байкал», «Экстрасол», «Ургаса» и др. Исходя из указанного списка, в экспериментальной части работы был использован препарат «Байкал».

В работе исследован процесс компостирования лигноцеллюлозных отходов переработки льна – важной культуры сельскохозяйственного значения для Тверской области. В качестве растительного сырья для получения компостов использовали костру и полову льна. Для интенсификации процесса биоконверсии на лигноцеллюлозное сырье предварительно воздействовали низкочастотным ультразвуком (30 кГц) с варьированием интенсивности и продолжительности обработки, в контрольных опытах использовали сырье без ультразвуковой обработки.

Следует отметить, что максимальное количество гуминовых кислот ( $6,7 \pm 0,1\%$ ) было определено для компостов, полученных при использовании в качестве лигноцеллюлозного растительного сырья половы льна после ультразвуковой обработки.

### Список использованной литературы

1. Беловежец Л.А. Перспективные способы переработки вторичного лигноцеллюлозного сырья / Л.А. Беловежец, И.В. Волчатова, С.А. Медведева // Химия растительного сырья, 2010. – № 2. – С. 5–16.
2. Overview of the recent advances in lignocellulose liquefaction for producing biofuels, bio-based materials and chemicals / Jae-Young Kim et al. // Bioresource Technology. – 2019. – Vol. 279. – P. 373-384.
3. Goacher, R. Advancing *lignocellulose bioconversion* through direct assessment of enzyme action on insoluble substrates / R. Goacher, M. Selig, E. Master // Current Opinion in Biotechnology. – 2014. – Vol. 27. – P. 373-384
4. Правительство Тверской области [Электронный ресурс]//Режим доступа: <https://тверскаяобласть.рф/ekonomika-regiona/agropromyshlennyy-kompleks/lno-v-tve/?print=y>
5. Белопухов С.Л. Физико-химические свойства органо-минерального комплекса из растительных остатков льняной костры / С.Л. Белопухов, И.И. Дмитревская, Е.А. Гришина // Агрехимия, 2016. – № 6. – С. 20–28
6. Багаева, О.И. Модернизация регионального производства биопрепаратов / О.И. Багаева, И.Н. Беспалов, В.Р. Иваница // Защита и карантин растений, 2000. – № 8. – С. 19-20.
7. Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению в Российской Федерации. М.: Агропромиздат, 2000. – 277 с.

Сауытбаева Г.З., Дямуриаева Г.Е.,  
Кудияров Р.И., Дямуриаева Э.Б.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *ENCARSIA FORMOSA* ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ *TRIALEURODES VAPORARIORUM* НА ТОМАТАХ ОТ В ТЕПЛИЦАХ ПРИАРАЛЬСКОГО РЕГИОНА

Выращивание овощных культур в теплице методом малообъемной гидропоники на субстратах позволяет избежать проблем с патогенами – возбудителями болезней, которые в большом количестве могут находиться в почве. Однако, ни одна технология не может предотвратить распространение в теплице различных вредителей, которые мигрируют из вне и в благоприятных условиях микроклимата теплиц очень быстро размножаются.

Одним из основных вредителей в теплицах является тепличная белокрылка (*Trialeurodes vaporariorum*), потери урожая, от которой настолько велики, что без проведения хорошо организованных защитных мероприятий тепличное производство овощной продукции становится невозможным. Ущерб, который наносит *T.vaporariorum*, можно разделить на три категории:

- во-первых, взрослые и неполовозрелые особи питаются флорой и могут способствовать сокращению продуктивности за счет прямого потребления транспортируемых углеводов, азота и других питательных веществ;

- во-вторых, они производят большое количество пади на листе, на котором развивается плесень, что приводит к снижению фотосинтеза листьев, и как следствие к снижению урожайности;

- в-третьих, взрослые особи переносят различные вирусные заболевания.

Борьба с тепличной белокрылкой является неизбежным технологическим звеном при любом способе выращивания овощных растений. В настоящее время в теплицах Приаралья для борьбы с *T.vaporariorum* производителями применяются преимущественно химические средства защиты. Данная технология приобрела такую популярность у региональных производителей овощной продукции, поскольку она достаточно проста в применении и эффективна, так как в короткий промежуток времени наблюдается массовая гибель вредителей. Однако, в условиях теплиц у *T.vaporariorum* быстро вырабатывается устойчивость (резистентность) к любому химическому препарату и производители тепличной продукции становятся беспомощными перед вредителями и несут значительные потери урожая [231].

Тем временем, во всем мире ежегодно увеличиваются площади теплиц, где используется биологический метод защиты растений, который позволяет не только эффективно бороться с вредителями, но и способствует снижению экологического загрязнения окружающей среды, созданию здоровой рабочей среды для производителей. Кроме того, потребителей овощной продукции

все больше волнует вопрос ее качества. Многие страны ввели более жесткие стандарты на содержание в продуктах остатков ядохимикатов, а спрос на продукцию, выращенную без применения химических средств, постоянно увеличивается.

Одним из наиболее эффективных методов биологической защиты от вредителей является использование энтомафагов. Многочисленными исследованиями установлено, что наиболее эффективным энтомафагом для борьбы с *T.vaporariorum* является энкаэрия (*Encarsia formosa*), которая позволяет контролировать численность вредителя и сократить, а иногда и полностью исключить, применение средств химической защиты. Биологический контроль над *T.vaporariorum* посредством выпуска паразитоида *E.formosa* используется в настоящее время примерно на 5000 га в более чем 20 из 35 стран, где есть тепличная промышленность и, в основном, на томате [1,2].

Определение оптимального соотношения численности компонентов системы паразит:хозяин является одним из важных условий его успешного применения способом колонизации. Поэтому на базе тепличного хозяйства Кызылординского университета им.Коркыт Ата были проведены исследования по применению *E.formosa* для борьбы с *T.vaporariorum* в посадках томатов, в которых применяли способ насыщенной колонизации *E.formosa* в стадии имаго при различном соотношении паразит : хозяин – 1:5; 1:10; 1:15.

Для обнаружения вредителя в теплице использовали желтые ловушки. Выпуск *E.formosa* начинали при появлении первых очагов развития вредителя. Для этого в местах развития очагов раскладывали листья табака с энтомафагом. Выпуск проводили каждую неделю в течение месяца, с тем, чтобы добиться поражения личинок *T.vaporariorum* до 80-90%, так как после этого порога *E.formosa* сама способна контролировать численность вредителя. Эффективность энтомофага рассчитывался как процент паразитированных нимф белокрылки, обнаруженных на растениях на дату отбора проб, от их общего количества.

Результаты исследований показали, что паразитическое действие *E.formosa* наступало при третьем выпуске энтомофага и было наиболее значительным 43,7% при соотношении паразит:хозяин 1:5 и гораздо менее значительным при соотношением 1:10 и 1:15 – 8,2% и 5,3% соответственно. Эффект полного контроля численности вредителя наступал при четвертом выпуске энтомофага в соотношении паразит:хозяин 1:5 – и составлял 87,9% и при пятом – в соотношении паразит:хозяин 1:10 – (91,6%). Выпуск *E.formosa* в соотношение паразит:хозяин 1:15 для полного контроля вредителя был недостаточен – 72,3% (рисунок).

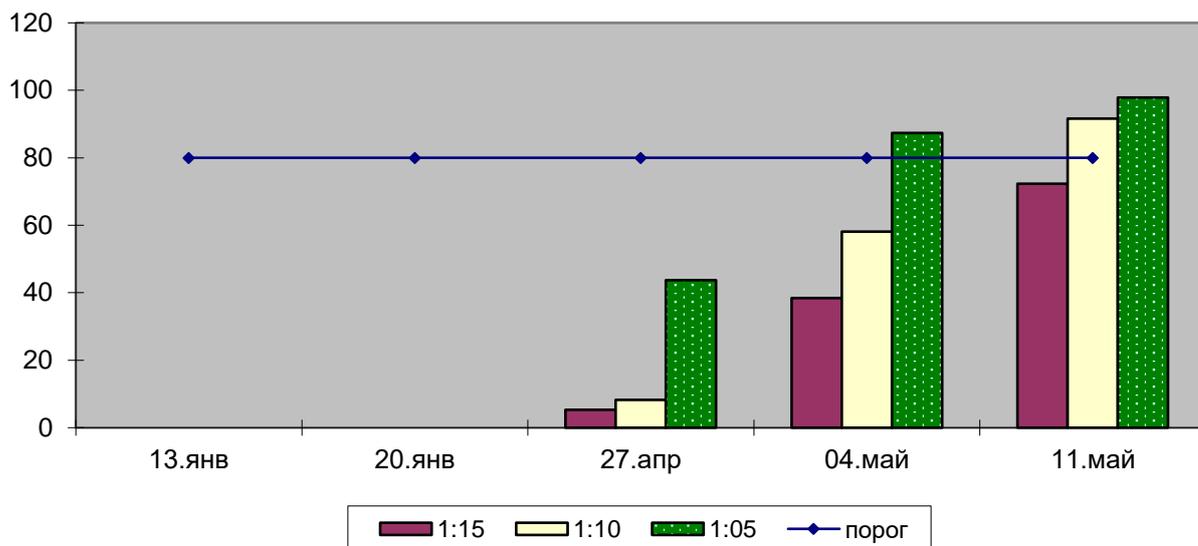


Рисунок. Эффективность применения *Encarsia formosa* против *Trialeurodes vaporariorum*

В результате было установлено, что биологический порог, после которого *E.formosa* способна самостоятельно регулировать численность *T.vaporariorum* происходит при ее четырехкратном выпуске в соотношении паразит: хозяин 1:5 и при пятикратном выпуске в соотношении 1:10. Поэтому для эффективной борьбы с тепличной белокрылкой *T.vaporariorum* при выращивании томата в теплицах Приаральского региона рекомендуется применение способа насыщенной колонизации *E.formosa* в стадии имаго с соотношением паразит: хозяин 1:5, а также для более экономного использования энтомафага возможно в соотношении 1:10.

Данная статья публикуется в рамках проекта № AP08956053 Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

### Список использованной литературы

1. Joop C. van Lenteren, Herman J.W. van Roermund, Susanne Sütterlin. Biological Control of Greenhouse Whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) with the Parasitoid *Encarsia formosa*: How Does It Work? - Biological Control. - Vol. 6, Issue 1, 1996. - P. 1-10. - ISSN 1049-9644. - URL: <https://doi.org/10.1006/bcon.1996.0001>
2. Roermund, Herman J.W. van Understanding biological control of greenhouse whitefly with the parasitoid *Encarsia formosa* : from individual behaviour to population dynamics / Herman J.W. van Roermund. - [S.l. : s.n.]. - 111. Thesis Landbouwniversiteit Wageningen. - With réf. - With summary in Dutch. - P.7-8. - ISBN 90-5485-437-5

## ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МЯГКИХ ГНИЛЕЙ РАСТЕНИЙ, В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Фитопатогенные виды пектолитических бактерий родов *Pectobacterium* и *Dickeya* (ранее известные как виды *Erwinia*) являются возбудителями широко распространенных бактериозов вегетирующих овощных культур и декоративных растений в различных климатических регионах. Бактериозы также поражают плодоовощную продукцию во время хранения, причиняя значительный экономический ущерб [1]. Факторами вирулентности фитопатогенных бактерий являются внеклеточные ферменты, разрушающие пектолитические и целлюлозные компоненты растительной ткани, что приводит к развитию бактериозов, называемых мягкими гнилями [2]. Бактериозы картофеля и других овощных культур, вызываемые пектобактериями, широко распространены в республике Беларусь, но видовой состав бактерий и их вирулентные свойства изучены недостаточно. Целью данной работы явилось выделение фитопатогенных пектолитических бактерий из пораженных бактериозами растений и изучение продукции ими пектолитических и целлюлолитических ферментов.

Материалы и методы исследования.

Образцы растений картофеля отбирали в сезон 2019-2020 года. Стебли картофеля (всего 20 образцов), пораженные «черной ножкой», отбирали на посадках картофеля в июле, клубни картофеля (27 образцов), корнеплоды моркови, лук и капусту с признаками мягкой гнили, отбирали в хранилищах в зимний период. Образцы растений растирали в стерильной воде и суспензию высевали на картофельно-пектатную среду в чашках Петри. На 2-3 сутки культивирования отбирали колонии бактерий, погруженные в пектатный гель. Чистые культуры бактерий анализировали стандартными физиолого-биохимическими и морфологическими методами, как описано ранее [3].

Пектатлиазную и целлюлазную активность бактерий определяли в мацерированной ткани клубней картофеля. Клубни картофеля сорта Венета заражали суспензией бактерий и инкубировали в термостате (28<sup>0</sup> С) в течение 48 часов. Мацерированную массу помещали в пробирку, приливали равный объем 0,05М Трис-НСl буфера, перемешивали и центрифугировали при 5000 об/мин 20 мин. Супернатант использовали для определения ферментативных активностей. Пектатлиазную, целлюлазную (эндоглюканазную) активность определяли как описано ранее [4].

Большинство штаммов, выделенные из пораженных мягкими гнилями тканей растений, были идентифицированы как представители семейства пектобактерий рода *Pectobacterium* с видами *atrosepticum* и *carotovorum* и не идентифицированные до вида (таблица). Некоторые выделенные штаммы отнесены к роду *Bacillus*. Исследования, проведенные в республике

Польша. также показали доминирующее распространение пектобактерий на посадках картофеля [5]. Все выделенные бактерии эффективно мацерировали ткани клубней картофеля при искусственном заражении.

Таблица

Пектатлиазная и целлюлазная (эндоглюканазная) активность фитопатогенных пектолитических бактерий.

Вид, штамм	Активность Пектатлиазы Е/мл	Активность Эндоглюканазы Е/мл	Вид, штамм	Активность Пектатлиазы Е/мл	Активность Эндоглюканазы Е/мл	Вид, штамм	Активность Пектатлиазы Е/мл	Активность Эндоглюканазы Е/мл
P.ca* 02-1	0,489	119,71	P.ca 64-1	0,217	82,83	P.at 108-1	0,233	48,67
P.ca 02-2	1,223	117,16	P.ca 64-2	0,620	175,84	P.at 108-2	0,075	50,19
P.ca 03-9	1,760	64,91	P.ca 65-1	0,304	236,34	P.ca 110-1	0,115	127,97
P.ca 04-3	1,085	66,98	P.ca 65-2	0,566	170,0	P.ca 110-2	0,116	129,14
P.ca 04-4	0,706	271,71	P.sp 74	0,001	78,41	P.ca 111-2	0,057	43,34
P.at 09-3	0,163	115,55	P.at 084	0,366	108,79	P.ca 113-1	0,186	96,31
P.ca 29-1	0,683	205,09	P.ca 086	0,813	156,98	P.ca 113-2	0,095	49,83
P.ca 29-2	0,645	172,64	P.ca 086-1	0,350	124,91	P.at 114-1	0,204	105,48
P.at 34-4	0,074	67,03	P.ca 087	0,402	142,09	P.at 118-2	0,159	50,14
P.ca 35-2	0,411	275,33	P.ca 087-1	0,717	182,59	P.at 119-1	0,072	55,19
P.at 36-3	0,030	56,31	P.ca 88-1	0,362	130,5	P.ca 119-2	0,172	46,55
P.at 36-4	0,171	56,41	P.ca 88-2	0,915	193,19	P.ca 121-2	0,680	68,14
B.sp 37-3	1,068	275,84	P.ca 90-1	0,601	167,52	P.ca 123-1	1,18	98,59
B.sp 37-4	0,672	311,29	P.ca 90-2	0,405	131,05	P.ca 123-2	0,578	64,84
B.sp 38-1	0,045	104,5	P.ca 094	0,318	129,76	P.ca 124	0,266	50,57
P.ca 39-1	0,307	41,07	P.ca 95-2	0,316	134,12	P.ca 125	0,734	85,0
P.ca 44-1	0,565	268,14	P.ca 096	0,402	144,72	P.ca 126	0,443	101,41
P.ca 45-1	0,551	116,74	P.ca 97-1	0,284	169,02	P.ca 127	0,459	109,6
P.ca 45-2	0,083	86,07	P.ca 98-1	0,267	311,93	P.ca 128	0,285	79,67
P.ca 47-1	0,240	174,22	P.ca 98-2	0,47	70,78	P.ca 129	0,738	136,53
P.at t47-2	0,132	96,57	P.ca 99-2	0,36	100,78	P.ca 130	0,711	198,19
B.sp 51-1	0,238	62,36	B.sp 100	0,388	209,38			
P.at 51-2	0,44	70,97	P.ca 101-2	0,704	79,05			
P.at 52-1	0,785	119,57	P.ca 102-1	0,249	184,17			
P.ca 52-2	0,721	11,07	P.ca 102-2	0,098	129,12			
P.sp 54-1	0,001	41,86	P.ca 104-2	0,047	33,72			
P.sp 54-2	0,022	51,9	P.sp 105-1	0,021	328,17			
B.sp 55-1	0,275	42,34	P.sp 105-2	0,027	37,50			
P.at 56-2	0,137	118,1	P.ca 106-1	0,146	88,52			
P.sp 58-1	0,001	45,24	P.ca 106-2	0,072	89,22			
P.sp 58-2	0,001	37,97	P.at 107-2	0,045	40,45			

\*P.ca –*P.carotovorum*; P.at- *P.atrosepticum* ; P.sp- *Pectobacterium sp*; B.sp-  
*Bacillus sp*

Пектатлиазная активность выделенных штаммов варьировала в широких пределах:

От 0,1 Е/мл до 1,76 Е/мл мацерированной ткани. Наибольшая активность пектатлиаз регистрировалась у отдельных штаммов бактерий *P.carotovorum*, но большинство штаммов характеризовались средними уровнями активности. У бактерий *P.atrosepticum* отмечалась более низкая пектатлиазная активность. Более высокая эндоглюканазная активность также отмечалась среди штаммов *P.carotovorum* и низкая у штаммов *P.atrosepticum*. Бактерии *P.atrosepticum* известны как более специализированные патогены, способные вызывать «черную ножку» стеблей картофеля и мягкие гнили различных овощных культур. Возможно их более низкая ферментативная активность связана с их патогенной специализацией. Некоторые штаммы *P.carotovorum* с высокой пектатлиазной и эндоглюканазной активностью могут использоваться как продуценты мацерирующих ферментов.

**Выводы:**

1. Основными возбудителями мягких гнилей растений в республике Беларусь являются пектобактерии *P.carotovorum*, *P.atrosepticum*, *P.spp.* а также в меньшем числе случаев *Bacillus spp.*

2. *P.carotovorum* характеризуются более высокой пектатлиазной и целлюлазной активностью по сравнению с *P.atrosepticum*. Наиболее активные штаммы *P.carotovorum* могут использоваться как продуценты мацерирующих ферментов

#### **Список использованной литературы**

1. Perombelon M. C. M. Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis // *Plant Pathology*, 2002., Vol. 51. P. 1–12
2. Hugouvieux-Cotte-Pattat N., Condemine G., Shevchik V. E. Bacterial pectate lyases, structural and functional diversity // *Environmental Microbiology Reports*, 2014, 6(5), P. 427–440
3. Dye D. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. I. The "Amylovora" group // *N.Z.J.Sci.* 1968, v11, p.590-608.
4. Starr M., Moran P. Eliminative splite of pectic substances by phytopathogenic soft rot bacteria // *Science*, 1962, v135, p.920-921.
5. Motyka-Pomagruk A., Zoledowska S., Sledz W., Lojkowska E. The occurrence of bacteria from different species of *Pectobacteriaceae* on seed potato plantations in Poland // *Eur J Plant Pathol* (2021) 159:309–32

*Авдеев И.С., Исмаилов А.А.*

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОУСТОЙЧИВОСТИ  
МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ СКВАШИВАНИИ МОЛОКА В  
РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМАХ**

Молочнокислые бактерии широко распространены в природе, они постоянно встречаются в почве, на различных растениях, на плодах и овощах, в молоке [1]. Молочнокислые бактерии бывают шаровидной и палочковидной. Они неподвижны, спор не образуют и являются факультативными анаэробами. Молочнокислые бактерии относятся к числу постоянных обитателей молока и вызывают в нем ряд биохимических процессов [2]. Кроме этих бактерий, в молоке могут находиться различные гнилостные бактерии. Количество микроорганизмов и их составе в молоке могут колебаться фон молочнокислых продуктов из молока в целом зависит в каких условиях оно было получено, в каких условиях хранилось, транспортировалось и реализовывалось. В настоящее время каждый знает, как важно и полезно для человека употреблять молочнокислые продукты, в которых находятся живые молочнокислые бактерии (МКБ), называемые пробиотиками [3].

Неправильное обращение с такими продуктами может свести к минимуму их пользу. Такие бактерии являются очень чувствительными к условиям хранения и получения. Нарушение этих условий, например, при несоблюдении температурного режима при хранении и транспортировке, приводит к гибели культуры (МКБ) уже готовом кисломолочном продукте, чем сводиться на нет вся польза употребления [4, 5].

В качестве объекта исследования (в качестве закваски) использовано четыре кисломолочных продукта, производители которых утверждают, что в их составе находятся живые МКБ. Это натуральный биоюгурт «Чабан» «Нальчикский молочный комбинат», «Активиа» ООО «Данон Индустрия», «Слобода» ОАО «Слобода», «Дарман» АО «Кизлярагрокомплекс».

При исследовании роста МКБ в выбранных температурных режимах, использованы пробирки – эппендорфа на 20 мл. В них вносилось 15 мл. ультрапастеризованного молока и в качестве закваски - 1 мл одного из четырёх представленных выше йогуртов, после чего помещали в термошейкер [6].

В серии опытов с четырьмя разными заквасками при трёх температурных режимах: 30, 37 и 42°C.

В процессе роста МКБ начинают сквашивать молоко, при этом они превращают лактозу (молочный сахар) в молочную кислоту. При этом рН молока с нейтрального меняется до кислых значений рН 5.0.

Чтобы понять, как идет процесс роста МКБ периодически измеряли показатели рН молока с помощью рН метра 206 рН1 «Testo».

Изучалось влияние температуры на качество получаемого кисломолочного продукта. Результаты проведенных экспериментов при трёх разных температурах представлены в таблице.

Таблица

Динамика рН молока в зависимости от температуры

Время в минутах	рН при 30°	рН при 37°	рН при 42°	Закваска
0	7.0	7.0	7.0	Активиа
	7.0	7.0	7.0	Слобода
	7.0	7.0	7.0	Дарман
	7.0	7.0	7.0	Чабан
120	6.4	6.5	6.4	Активиа
	6.5	6.8	6.4	Слобода
	6.7	6.5	6.4	Дарман
	6.9	7.0	6.4	Чабан
180	5.8	6.0	5.8	Активиа
	6.4	5.8	5.8	Слобода
	6.6	6.2	5.8	Дарман
	6.4	6.5	6.0	Чабан
240	-	5.0	5.0	Активиа
	-	5.0	5.0	Слобода
	-	5.0	5.0	Дарман
	-	5.5	5.3	Чабан
300	-	5.8	-	Активиа
	-	6.0	-	Слобода
	-	6.2	-	Дарман
	-	6.1	-	Чабан
360	-	5.7	-	Активиа
	-	5.7	-	Слобода
	-	5.5	-	Дарман
	-	5.9	-	Чабан

Оказалось, что бактериям понадобилось 4 часа, чтобы сквасить молоко до рН 5.0. Т.е. при 37°С бактерии растут очень быстро. При этом получившийся кисломолочный продукт был хорошего качества по консистенции.

В следующем этапе МКБ культивировали при температуре 42°C. При этом процесс сквашивания молока сократился на полтора часа и составил 2.5 часа вместо 4 часов. Но получившийся продукт, хоть и достиг рН 5, но у всех четырёх вариантов имел жидкую консистенцию с какими-то включениями, не похожую на йогурт.

В третьем случае рост МКБ осуществляли при пониженной температуре 30°C. При этом время роста бактерий и сквашивания молока увеличилось почти в двое (до 6 ч) по сравнению с первым вариантом опыта. Кроме того, также, как и во втором варианте при температуре 42°C качество полученного продукта было существенно ниже: консистенция полу густая или жидкая.

Таким образом, исследование показало, что для роста МКБ очень важна температура, при которой происходит процесс брожения. Не соблюдение термического режима приводит к получению некачественного продукта, на рост МКБ очень сильно влияет температура. Наиболее оптимальная 37°C. Повышение температуры приводит к ускорению процесса сквашивания, понижение – к увеличению длительности сквашивания молока. Но при этом конечный продукт меняет свои свойства. При использовании разной закваски, получают кисломолочные продукты с разной консистенцией.

### **Список использованной литературы**

1. Рамонова Э.В. Морфологические и культуральные свойства лактобактерий, выделенных из содержимого кишечника телят / Э. В. Рамонова, Р.Г. Кабисов // Достижения науки – сельскому хозяйству: Материалы региональной научно-практической конференции, 2016. – С. 150-153.
2. Беспоместных К.В. Исследование биохимических и морфологических свойств штаммов бактерий рода *Lactobacillus* / К.В. Беспоместных, А.Г. Галстян, Е.В. Короткая // Техника и технология пищевых производств, 2011. – №2(21). – С. 94-98.
3. Государственный стандарт. Молочная продукция. Термины и определения. ГОСТ Р 51917 - М.: Госстандарт России, 2008. – 21с.
4. Данильчук Т.Н., Ефремова Ю.Г., Бережная Е.А., Краснова Е.В., Барковская И.А., Атюнина Ю.В. Изучение влияния функциональной добавки на процесс сквашивания молока // Вестник науки. 2020. – Т.1. – №1(22). – С. 140-146.
5. Крусъ Г.Н., Шалыгина А.М., Волокитина З.В. Методы исследования молока и молочных продуктов. – М.: Колос, 2000. – 368 с.
6. Савинская В. С. Свежесть молока. Определение кислотности молока / В.С. Савинская, А.В. Куликова, А.Р. Байрамкулова // Актуальные вопросы современной науки и образования сборник статей II Международной научно-практической конференции, 2019 – С. 395-398.

## ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАЦИИ НА ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ НАПИТКА С ПРЕБИОТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ НА ОСНОВЕ ВЕРБЛЮЖЬЕГО МОЛОКА

На сегодняшний день верблюжье молоко занимает особое место среди кисломолочных продуктов. Хотя верблюжье молоко и шубат являются традиционными продуктами, в Казахстане нет крупномасштабного производства других продуктов из верблюжьего молока. Их продукции всего несколько видов. Известно, что верблюжье молоко является источником белка и жира. Оно богато необходимыми минералами: кальцием, магнием, цинком, кобальтом, железом, калием, фосфором и витаминами А, С и В. Хотя верблюжье молоко менее жирно, чем коровье, оно содержит значительно больше ненасыщенных жирных кислот. Верблюжье молоко применяется при лечении туберкулеза, желудочно-кишечных заболеваниях, диабете, аллергии и т. д. Применяется в лечебных и профилактических целях при многих заболеваниях [1].

Важным физико-химическим показателем кисломолочных продуктов является титруемая и активная кислотность. Титруемая кислотность – важный показатель свежести молока и молочных продуктов. Это указывает на концентрацию кислых компонентов молока. Для него характерно увеличение содержания молочной кислоты в кисломолочных продуктах. Он образуется в процессе молочнокислого брожения и определяет высокую титруемую кислотность этих продуктов. Активная кислотность – один из показателей качества, который определяется концентрацией ионов водорода. Коллоидное состояние белков молока, рост полезной и вредной микрофлоры, активность ферментов зависит от значения рН. Оптимальный рост большинства молочнокислых бактерий находится в пределах известного диапазона рН, поэтому его необходимо поддерживать на определенном уровне [2,3].

Целью данной работы явилось изучение физико-химических свойств кисломолочного напитка с пребиотическими свойствами, полученного на основе верблюжьего молока.

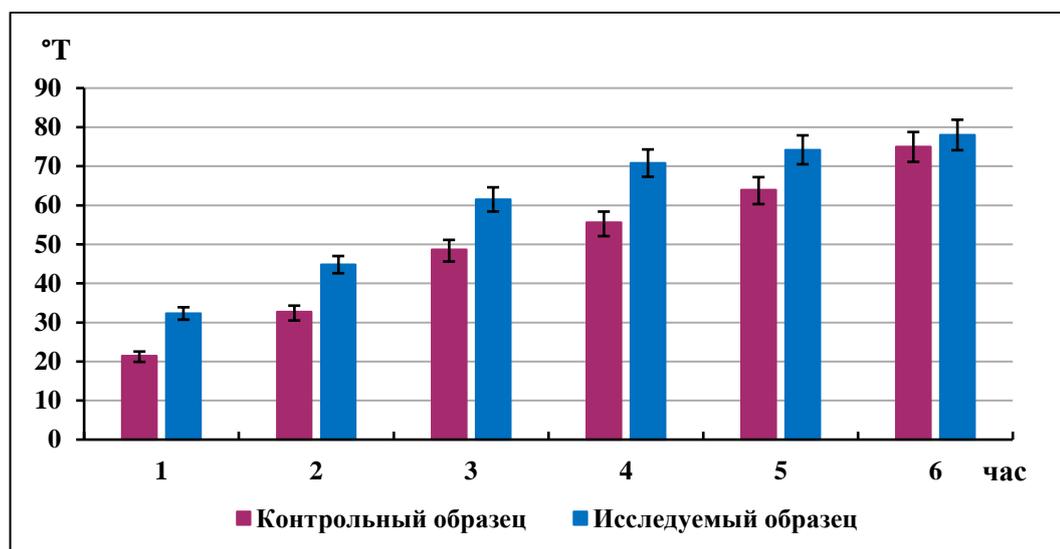
Объектом исследования явилось верблюжье молоко частного фермерского хозяйства «Димаш» расположенной в селе Карой Илийского района Алматинской области, производственная симбиотическая закваска ВНИМИ СТБп (*Streptococcus salivarius subsp. termophilus* и *Lactobacillus delbrukii subsp. Bulgaricus*), сироп состоящие из фруктозы:изомальтулозы:лактоулозы.

Исследования проводились на кафедре «Пищевая биотехнология» Алматинского технологического университета.

Титруемая и активная кислотность определяли потенциометрическим методом по ГОСТ 31976–2012 и ГОСТ 26781-85 [4,5].

Исследуемые нами образцы представляли собой кисломолочный напиток, содержащий углеводную композицию, которые обладали пребиотическими свойствами. В качестве контрольного образца взяли кисломолочный напиток не содержащий углеводную композицию.

Было изучено влияние процесса ферментации на титруемую кислотность контрольных и исследуемых образцов, результаты которых показаны на рисунке 1.



Средняя стандартная ошибка результатов ( $\pm$  SEM),  $n = 7$ , \*  $p \leq 0,01$ , \*\*  $p \leq 0,05$ .

Рисунок 1. Влияние процесса ферментации на титруемая кислотность °T,  $n = 7$

Как видно из рисунка 1, титруемая кислотность в течение протекания ферментации увеличивалась, и через 6 часов титруемая кислотность контрольного образца составила 75,0 °T, а кислотность исследуемого образца - 79,0 °T. При добавлении углеводной композиции с пребиотическими свойствами было отмечено, что рост кислотности в исследуемых образцах происходит быстрее, чем в контрольном образце. Это может быть связано со стимулирующим действием углеводного состава на заквасочную микрофлору *Streptococcus thermophilus*. Образец с добавлением углеводного состава имеет более высокую кислотность, чем контрольный образец.

Активная кислотность кисломолочных продуктов – показатель, контролирующий скорость технологического процесса. Низкий значение рН губительно влияет на молочнокислые бактерии, так как активность ионов водорода влияет на выживаемость микроорганизмов. Значение рН может изменяться при колебаниях температуры. Поэтому определение таких показателей, как значение рН, необходимо не только для обеспечения оптимальных условий для роста микроорганизмов, но и для поддержания микробиологических параметров в производственном процессе и для устранения дефектов продукта.

Результаты влияния процесса ферментации на значение рН показаны на рисунке 2.

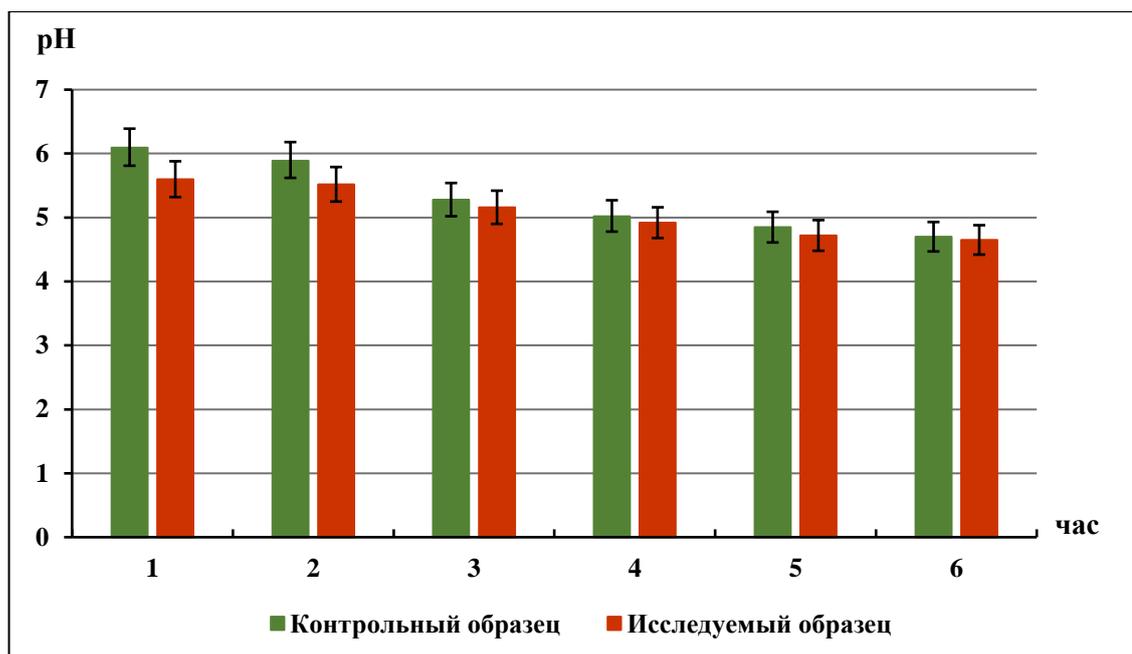


Рисунок 2. Влияние процесса ферментации на значение рН, n = 7

На рисунке видно, что значение рН изменяется быстрее с увеличением времени ферментации в контрольном образце. В исследуемых образцах с добавлением углеводного композици скорость изменения значение рН ниже, чем в контрольном образце. В первый час процесса ферментации значение рН составляло 6,09 в контрольном образце и 5,6 в исследуемом образце. Через 6 ч контрольный образец показал значение рН 4,7, а исследуемый образец показал 4,65.

Отсутствие незначительных различий в активной кислотности двух образцов связано с буферными свойствами молока, которые защищают молоко и молочные продукты от резких изменений значение рН. Это очень важное свойство для молочной промышленности, поскольку они способствуют развитию молочной кислоты и других бактерий в молоке, несмотря на высокую титруемую кислотность. Из-за буферных свойств молока казеин осаждается при постоянном рН (4,6), но при различной титруемой кислотности.

Таким образом, наши данные показали, что верблюжье молоко является хорошим сырьем для производства функциональных кисломолочных продуктов.

### Список использованной литературы

1. Agrawal R.P., Budania S., Sharma P. et al. Zero prevalence of diabetes in camel milk consuming raica community of north-west Rajasthan // India Diabetes Research and Clinical Practice. – 2007. – Vol. 76, № 2. – P. 290-296.

2. Горбатова К.К. Химия и физика молока и молочных продуктов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. – СПб.: ГИОРД, 2012. – 336 с.
3. Карпеня М.М. Технология производства молока и молочных продуктов: учебное пособие / М.М. Карпеня, В.И. Шляхтунов, В.Н. Подрез. – Минск: Новое знание; Москва: Инфа-М, 2015. – 410 с.
4. ГОСТ 31976–2012 Йогурты и продукты йогуртные. Потенциометрический метод определения титруемой кислотности. – М.: Стандартинформ, 2018. – 9 с.
5. ГОСТ 26781-85 Молоко. Метод измерения рН. – М.: Стандарт-информ, 2009. – 4 с.

*Белокурова Е.В., Саргсян М.А.*

### **ПЕРСПЕКТИВЫ РАСШИРЕНИЯ АССОРТИМЕНТА ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ БЕЗГЛЮТЕНОВЫХ ИЗДЕЛИЙ**

В условиях дефицита отечественных продуктов функционального питания особую актуальность приобретает разработка качественных и недорогих, безглютеновых продуктов российского производства. Распространенность целиакии среди взрослого населения составляет 1–3 %, но в подавляющем большинстве заболевание протекает латентно, имитируя различные функциональные расстройства пищеварительной, нервной, эндокринной системы, опорно-двигательного аппарата. Целиакия поражает не только тонкий кишечник, но и другие системы. Единственным средством лечения целиакии и профилактики ее осложнений является строгая безглютеновая диета. Безглютеновая диета заключается в полном исключении из рациона продуктов, содержащих глютен или его следов. Скрытый глютен – глютен, молекулярные структуры которого изменены после прохождения определенной производственной обработки [1].

При разработке безглютеновых хлебобулочных изделий первоначально важным изменением в готовой рецептуре является подбор муки. К муке с высоким содержанием крахмальных и некрахмальных полисахаридов без глютена можно отнести: рисовую муку, кукурузную муку, овсяную муку, муку из псевдозерновых (амарант, греча) и крупяных культур (просо), муку из сорго, льняную муку, муку из арахиса, люпиновую муку и др. Данные комбинации имеют ряд проблем связанных в первую очередь с низкими потребительскими свойствами и «непривычными» органолептическими свойствами готового продукта. В поиске альтернативного сырья перспективными можно выделить муку амарантовую и муку из сорго. Амарант имеет высокую минеральную ценность. Мука имеет уникальный состав: лизин; триптофан; метионин; сквален [2].

Не менее интересным представляется использование муки из сорго. Это яровая культура, которая отличается устойчивостью к засушливой погоде, способностью впадать в анабиоз при неблагоприятных условиях, обладает высокой урожайностью в условиях различных почв. Согласно

отчёту экспертно-аналитического центра «АБ-Центр», в 2014 г. под посевные площади сорго в России было выделены 166,7 тыс. га при урожайности 15,8 ц/га. Валовой сбор сорго в России составил 206,6 тыс. т, что является рекордным за период с 1990 по 2014 гг. Основные регионы, в которых высевают сорго, – Ростовская, Саратовская, Волгоградская, Оренбургская и Самарская области. Сорго является богатым источником различных фитохимикатов, таких как: танины, фенольные кислоты, антоцианы, фитостеролы, поликозанол. Следовательно, производство безглютеновых продуктов из сорго в России является перспективным направлением для развития отрасли [3].

Отсутствие клейковины в муке приводит к снижению вязкоупругих и клейких свойств, которые придают тесту эластичность, помогают ему подниматься при заквашивании и сохранять свою форму. Для решения данной проблемы целесообразно добавлять в рецептуру пищевые добавки, относящиеся к группе стабилизаторов, загустителей. Одним из наиболее подходящих по свойствам будет гуаровая камедь. Гуаровая камедь изготавливается из семян тропического растения; она богата клетчаткой, а потому натуральнее и полезнее ксантановой, которая не рекомендуется людям, склонным к аллергическим реакциям на сою и кукурузу, поскольку является результатом жизнедеятельности микроорганизмов, перерабатывающих данные зерновые культуры. Гуаровая камедь считается безвредной для организма человека, так как практически не всасывается кишечником. Также она помогает выводить из кишечника токсины и вредные бактерии, снижает уровень холестерина в крови [4].

Детальное изучение патогенеза глютенной энтеропатии создало основу для исследования возможных причин частого сочетания целиакии с рядом аутоиммунных и эндокринологических заболеваний. В качестве возможных причин ассоциации рассматриваются наличие у пациентов общих генетических маркеров, перекрестная реакция образующихся при целиакии аутоантител и активированных Т-лимфоцитов с собственными антигенами организма, системное воздействие провоспалительных цитокинов. Многочисленные исследования последних лет позволяют говорить о целиакии, как о системном патологическом процессе, вовлекающим в свою сферу все органы больного человека. Одним из ассоциированных с целиакией заболеванием является сахарный диабет. Поэтому особый интерес представляет поиск альтернативных сахарозаменителей. Смесь из фруктовых масс и заменителей сахара позволит решить данную проблему. К современным аналогам сахара можно отнести: полиолы, сорбит, маннит, изомальтит, эритрит [5].

С учетом современных реалий рынка функциональной пищевой промышленности использовать безглютеновые продукты потребителям не страдающим от глютенной энтеропатии имеет смысл только, в случае если производитель готов предложить продукт с улучшенными потребительскими свойствами и повышенной пищевой ценностью. Повышение содержания

белка в готовом продукте можно достичь путем добавления соевой окары, получаемой при производстве соевого молока. Окара является ценным источником белка (24 %) и клетчатки (12-14,5 %), не смотря на то, что это вторичный продукт, также богата макро, микроэлементами, витаминами, изофлавонами, минеральными веществами и липидами. Высококачественный белок в окаре по пищевой ценности не уступает белку коровьего молока и обладает высокими влагоудерживающей и жиросвязывающей способностями, хорошими эмульсионными свойствами. Он содержит в своем составе 16 аминокислот. Пищевые волокна, представленные в большей части целлюлозой и гемицеллюлозой, обладают выраженными лечебными свойствами при расстройствах пищеварения, нарушении обмена веществ, патологии кишечника, при прогрессирующем атеросклерозе, а также могут предупреждать развитие желчнокаменной болезни. Следовательно, окара является перспективным сырьем для использования в пищевой промышленности в лечебно-профилактических целях [6].

В связи с низким потребительским качеством, а так же высокой рыночной стоимостью безглютеновой продукции на Российском рынке - внедрение новых инновационных изменений в уже имеющихся структурах актуально и экономически рентабельно. На данный момент кафедрой сервиса и ресторанного бизнеса ведется разработка рецептуры безглютеновых изделий с внедрением комбинаций сахарозаменителей и подсластителей, а также нетрадиционного растительного и животного сырья, богатого пищевыми волокнами.

### **Список использованной литературы**

1. Zhuravlev A. A., Lukina S. I., Ponomareva E. I., Roslyakova K. E. Optimization of technological parameters of preparation of dough for rusks of high nutrition value // Foods and Raw Materials. 2017. N 1. С. 73-80.
2. Соловьева Т.И. Совершенствование технологии и перспективы использования амарантовой муки / Т.И. Соловьева, Д.А. Шаталов, О.А. Суворов // НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ XXI ВЕКА, 2020. –N 1. – С. 105-111.
3. Темникова О.Е. Изучение возможности применения муки из сорго в технологии мучных кондитерских изделий / О.Е. Темникова, А.В. Зимичев, С.Я. Беляев, А.А. Рузянова // Хлебопродукты, 2017. N 8. С. 34-35.
4. Чугунова О.В. Обоснование рецептурного состава сухих безглютеновых кулинарных смесей / О.В. Чугунова, Л.А. Кокорева, В.М. Тиунов // Индустрия питания, 2018. – Т. 3. – N 2. – С. 22-30.
5. Колдина Т.В. Исследование фруктово-желейных масс изготовленных с использованием сахарозаменителей / Т.В. Колдина, А.А. Вытовтов, Л.И. Кузнецова // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: процессы и аппараты пищевых производств, 2014. – N 3. – С. 87-98.
6. Куницына Т.О. Применение соевой окары для функциональных продуктов питания / Т.О. Куницына, Н.А. Березина, Л.А. Самофалова // Новые

концептуальные подходы к решению глобальной проблемы обеспечения продовольственной безопасности в современных условиях: сборник научных статей VII Международной научно-практической конференции. – Курск, 2020. – С.222-226.

*Бубырь И.В*

## **ПРОИЗВОДСТВО СЛАБОСОЛЕННОЙ ПРОДУКЦИИ ИЗ ЛОСОСЕВЫХ ВИДОВ РЫБ**

Рыба, как пищевой продукт, по вкусовым свойствам и питательности не уступает мясу, а по усвояемости превосходит его. Отличается высокобелковым и жирно-кислотным составом, обладает небольшим количеством соединительной ткани, что позволяет приготовить его в течение 5–30 минут, тем самым сохраняя протеин, практически на 100 % усвояемый организмом.

Существенный недостаток рыбы как продукта питания – быстрая порча. Основной причиной являются ферментативные процессы, приводящие к распаду тканей в результате автолиза, активная жизнедеятельность различной микрофлоры и окислительные реакции в рыбьем жире. Замедлить процесс порчи рыбы на неопределенное время возможно хранением сырья в консервированном виде.

В Республике Беларусь изготавливают сушеную, вяленую, копченую, соленую и другую рыбопродукцию, как из собственного, так и импортируемого рыбного сырья.

Посол рыбы – один из наиболее древних способов консервирования. В течение многих веков поваренная соль была, пожалуй, единственным надежным средством сохранения сырья, поэтому соленая рыба, в частности рыба крепкого посола, имела свое преимущество на рынке рыбных товаров, а для созревающих видов рыб посол считается наиболее целесообразным способом обработки, поэтому ассортимент соленых рыбопродуктов расширяется и совершенствуется.

Слабосоленая рыбная продукция характеризуется сравнительно небольшой стойкостью и длительностью хранения, поэтому все факторы, влияющие на технологический процесс производства, в конечном итоге окажут влияние и на потребительские свойства готовой продукции. Для увеличения сроков хранения и совершенствования качества слабосоленой рыбы, необходимо тщательное изучение кормов и добавок, технологий выращивания и кормления рыбы, соблюдения параметров убоя, способов охлаждения, скорости доставки сырья на предприятие, условий транспортирования, температурных режимов, способов и продолжительности посола, видов упаковки и т.д.

Целью работы являлось комплексное исследование качества рыбного сырья разных норвежских производителей.

Методика и объекты исследований. Объектом исследования были выбраны лососевые рыбы, выращенные в аквакультуре: лосось атлантический (семга), (*Salmo Salar*), различных заводов-изготовителей Норвегии. Номера заводов северного направления – F-430, N-742, T-126, N-1115, N-169; среднего направления – M-303, ST-337, ST-400, M-394 и южного – H-220, SF-364, H-107, SF-222.

Оценка качества рыбного сырья для производства слабосоленой продукции осуществлялась по органолептическим, микробиологическим, физико-химическим показателям, при этом использовались общепринятые стандартные методы и методики.

Результаты и их обсуждение. В период 1997–1998 гг. норвежская индустрия переработала критерии сортировки при экспорте лососевых рыб: Standart. Quality grading of farmed salmon (Стандарт. Классификация качества лосося) [1, с. 18] и в соответствие с сопроводительными документами на предприятие поступило сырье со следующими качественными показателями: «Супериор» – первоклассный продукт, без видимых дефектов, повреждений, дающий положительное общее впечатление, с характеристиками, которые делают его пригодным для любых целей и «Ординар» – товар с ограниченными внешними или внутренними дефектами, повреждениями или недостатками, которые не усложняют его дальнейшее применение, где согласно стандарту допускаются: повреждения в районе головы, плавников; кровоизлияния в чешуйных карманах или у основания плавников, вызванные, например, укусом вшей или стрессом; потеря чешуи; небольшие повреждения кожи или раны во внешней части кожи при нетронутой внутренней части; небольшие отложения меланина; неправильный разрез без глубокого повреждения мускулатуры; растопыренная плавниковая кость без размягчения ткани; чрезмерно жирное брюшко; умеренное изменение цветности из-за желчи; умеренные признаки половозрелости, особенно в районе головы.

От свежести поступающей рыбы в дальнейшем зависит качество и количество получаемой продукции. Сырье, доставленное на предприятие, проходит тщательную проверку, результаты фиксируются в карте оценки качества лососевых рыб. Сырье, не соответствующее требованиям, предъявляемым к «Супериор» или «Ординар» по причине дефектов, повреждений или недостатков, сортируется как «Производственное качество» или «Продукшиун». Нами было исследовано качество партий сырья по соответствию с 01.08.2019 по 21.08.2019. В результате установлено, что семга наилучшего качества поступает от заводов SF-222 (юг), ST-400, ST-337, M-394 (среднее). Наибольшее количество несоответствий у сырья таких заводов, как F-430 (север), SF-222 (юг), ST-400 (среднее).

Для получения продуктов высокого качества, с большим выходом, необходимо перерабатывать наиболее свежее сырье. С этой целью рассмотрели ряд заводов-изготовителей, сырье которых поступает на предприятие раньше своих конкурентов. Наиболее быстро рыбу доставляют

заводы SF-364 (юг) – 3–5 суток, Н-107 (юг) – 3–4 суток, ST-337 (среднее) – 3 суток, SF-222 (юг) – 3–5 суток, F-430 (север) – 3 суток. Согласно проведенным исследованиям, наиболее свежая семга приходит на предприятие от завода SF-364 (юг), чуть позже от F-430 (север) и ST-337 (среднее).

Анализ качества охлажденной рыбы органолептическими методами проводили согласно требованиям ГОСТ 7631-2008 [2 с. 4] (таблица).

Таблица

Органолептические показатели качества охлажденной рыбы

Наименование показателя	Семга охлажденная
Внешний вид	Рыба не побитая, без повреждений кожи и срывов чешуи. Поверхность чистая, естественной окраски. Жабры красного цвета. Слизь прозрачная без запаха.
Цвет	Свойственный данному виду рыб
Состояние кожного покрова	Без механических повреждений
Подкожное пожелтение	Пожелтение отсутствует.
Запах	Соответствует свежей рыбе, порочащих признаков нет
Консистенция	Плотная
Вкус	Свойственный данному виду рыб

В результате исследований образцов охлажденной рыбы, было установлено, что существенных отклонений по органолептическим показателям, соответствующим требованиям ТНПА не обнаружено, но отмечено, что рыба, поступающая на предприятие в течение 3–4 суток, имеет более высокие показатели, по сравнению с рыбой, доставленной позже.

При исследовании рыбного сырья по физико-химическим, микробиологическим показателям отклонений от нормативных значений не выявлено, но у рыбы, поступающей от производителей на 5–8 сутки, рН заметно смещено в щелочную сторону, АЛО – 20–45 мг/кг (содержание только лишь АЛО не может дать всесторонней информации о качестве продукции), КМАФАнМ, КОЕ/г, варьируется от  $2,1 \times 10^2$  до  $1 \times 10^5$ .

Выводы. Анализируя данные исследований, можно сделать вывод, что свежесть рыбного сырья зависит от сроков и условий поставки, при прочих равных требованиях. Второй этап научной работы предполагает определение скорости просаливания и сравнительный анализ качества готовой слабосоленой продукции из лососевых рыб в зависимости от влияния всех технологических и нетехнологических факторов на формирование ее потребительских свойств.

### Список использованной литературы

1. Whole Foods Market: Quality Standards for Farmed Seafood: Salmon, Other Finfish, and Shrimp. – Norway, January 1, 2014. – P. 38.
2. Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей: ГОСТ 7631-2008. – Взамен ГОСТ 7631-85; введ. РБ 01.09.09. – Минск: Белорус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2009. – 16 с.

*Вечер О.В., Кузнецов М. В.*

### ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА ДИСПЕРСНЫЙ СОСТАВ КОЗЬЕГО МОЛОКА

Актуальность исследования. Воздействие ультразвуковых волн различной частоты на молоко-сырье оказывает пастеризационный эффект, эффективность которого повышается с увеличением частоты. Вместе с тем, акустическое воздействие способствует гомогенизации сырья, что является значимым с точки зрения диетологии.

Целью данного исследования было изучить влияние длительности ультразвукового облучения на дисперсный состав коллоидных частиц козьего молока.

Материалы и методы. Объект исследования – фермерское козье молоко. Воздействие ультразвуком с частотой 37кГц проводилось в течение 5, 10 и 15 минут с помощью Elmasonic S10H. Дисперсный состав изучался по микрофотографиям, полученным с помощью оптического микроскопа Микромед-2 и цифровой фотокамеры.

Исследование проходило следующим образом: на предметное стекло наносилась капля козьего молока, накрывалась покровным стеклом, излишки молока удалялись. Далее предметное стекло помещалось под объектив микроскопа с установленной линзой кратности x40, делался контрольный снимок (рис. 1).

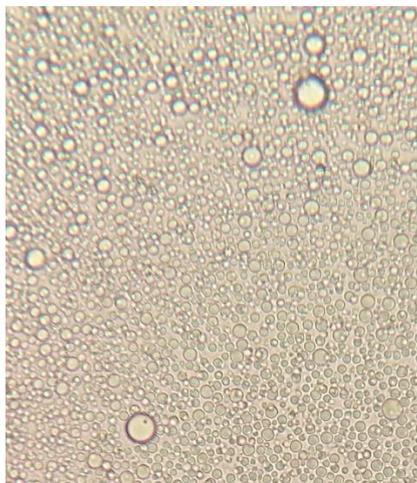


Рисунок 1. Контрольный образец (без обработки)

Далее образцы молока помещались в ультразвуковую ванну, с установленной частотой 37 кГц. Образцы проходили обработку на протяжении 5, 10 и 15 минут, после чего капли козьего молока из них помещались на предметное стекло и проходили исследование с получением снимков жировых образований (рис 2).

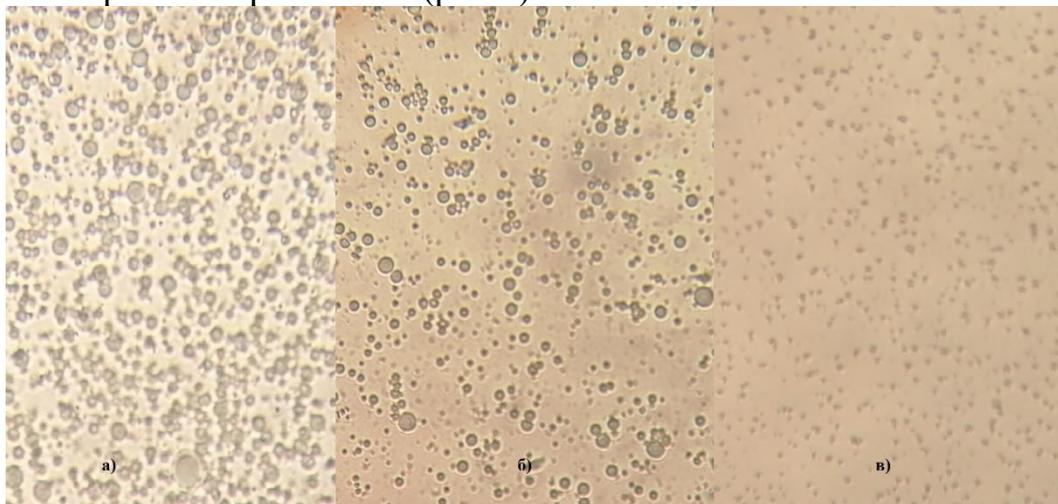


Рисунок 2. Обработанные образцы (а-5 минут, б-10 минут, в-15 минут)

Результаты исследования. Сравнение микрофотографий позволило сделать следующие выводы:

1) в необработанном образце молока присутствуют жировые частицы различных размеров, включая и достаточно крупные. Кроме того, часть жировых частиц объединены в конгломераты;

2) после обработки длительностью 5 минут, несколько наиболее крупных конгломератов разрушились, частицы стали более однородными по размерам;

3) обработка длительностью 10 и 15 минут сделала состав жировых частиц более однородным. Вместе с тем заметна некоторая деформация и нарушение сферичности у частиц, особенно в образце с экспозицией 15 минут.

Очевидно, что метод ультразвукового воздействия на молоко-сырье является перспективным как с точки зрения инактивации патогенной микрофлоры, так и с целью дополнительной гомогенизации жировых частиц. Увеличение времени экспозиции при неизменных частоте и интенсивности ультразвука приводит к разделению крупных жировых частиц на более мелкие. Длительное облучение ультразвуком приводит к некоторым нарушениям сферичности жировых частиц.

### Список использованной литературы

1. Сучкова Е.П. Методы исследования молока и молочных продуктов: Учеб.-метод. пособие / Е.П. Сучкова, М.С. Белозерова. – СПб.: Университет ИТМО; ИХиБТ, 2015. – 47 с.
2. Крусь Г.Н. Методы исследования молока и молочных продуктов / Г.Н. Крусь, А.М. Шалыгина, З.В. Волокитина. – М.: КолосС, 2002. – 368 с.

3. Барковский В.Ф. Основы физико-химических методов анализа / В.Ф. Барковский, Т.Б. Городенцева, Н.Б. Топорова. – М.: Высш. шк., 1983. – 247 с.
4. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии: анализ пищевых продуктов: Кн. 2. Оптические методы анализа: Учеб. для вузов / Я.И. Коренман. – М.: КолосС, 2005

*Волкова А.В., Власова Е.А.*

## **ОЦЕНКА КАЧЕСТВА МОРОЖЕНОЙ РЫБЫ**

Рыба – один из самых полезных продуктов. Диетологи рекомендуют включать её регулярно в рацион всем тем, кто заботится о своем здоровье. Польза рыбы объясняется содержанием в ней протеина, витаминов и минералов, а также незаменимых жирных кислот  $\omega$ -3, известных своей исключительной ролью в организме человека [1].

Однако употребление в пищу морепродуктов связано с определенными рисками. Потенциальный вред рыбы для здоровья человека объясняется содержанием в ней токсинов, прежде всего техногенной природы, попадающих в воду в результате промышленной деятельности человека (ртуть и другие тяжелые металлы) [1, 2].

Степень опасности определяется условиями выращивания (моря, океаны или фермы) и хранения, географией обитания (степень химического загрязнения океанов различна в разных регионах) и т.д. [1].

Рыба является скоропортящимся продуктом. Именно поэтому с момента вылова до окончательной обработки она обязана находиться в условиях, которые приостанавливают размножение патогенных микроорганизмов.

Заморозка рыбы – основной и надежный способ консервации с целью сохранения продукта на длительный срок, т.к. понижение температуры до  $-18^{\circ}\text{C}$  и ниже резко тормозит деятельность микроорганизмов, паразитов и ферментов мышечной ткани, а также замедляет окисление жира. Заморозка позволяет обеспечивать потребителей высококачественным продуктом и снабжать предприятия сырьем для производства различных рыбопродуктов (например, консервы, рыба холодного и горячего копчения и др.).

В целях торможения окислительных процессов мороженую рыбу выпускают глазированной, т.е. покрытой тонкой ледяной корочкой. Глазурь предохраняет мороженую рыбу от глубокого обезвоживания и усушки, от действия кислорода, от потери естественного цвета и ароматических веществ. Кроме глазирования водой, на рыбу наносят специальные защитные покрытия, например, поливиниловый спирт, карбоксиметилцеллюлозу, сорбиновую и лимонную кислоты, глицерин, антисептики [1].

В настоящей работе исследовано качество двух видов замороженной рыбы – трески и сельди, выловленных в Атлантическом и Тихом океанах.

Качество оценивали по следующим показателям: органолептическим, физико-химическим, содержанию тяжелых металлов.

Для экспертизы и оценки качества мороженой рыбы, реализуемой в розничной торговой сети, закуплены 6 образцов рыбы: образец 1 – треска потрошенная без головы мороженая (ООО КРФ «Айсберг»), образец 2 – стейк трески (ООО «МорФиш»), образец 3 – филе трески на коже мороженое (ООО «МорФиш»), образец 4 – салака непотрошенная мороженая (ООО КРФ «Айсберг»), образец 5 – сельдь Балтийская (салака) мороженая (ООО «Балт-Иней»), образец 6 – рыба свежемороженая сельдь (ООО «Роскамрыба»).

Органолептические показатели качества мороженой рыбы включают оценку внешнего вида, консистенции, запаха, вкуса, наличие посторонних примесей [3]. В настоящей работе установлено, что анализируемые образцы рыб 2, 3 и 5 соответствуют нормам ГОСТ 32366-2013. Однако у образцов 4 и 5 на теле обнаружены незначительные срывы кожи, что является допустимым. При вскрытии упаковки образца рыбы 1 обнаружен посторонний предмет в виде небольшого (1x1 см) куса картонной коробки, что категорически не допустимо.

К физико-химическим показателям качества мороженых рыб относятся: массовая доля глазури, влаги, общего фосфора. Массовую долю глазури во всех образцах рыбы (в %) определяли по методикам ГОСТ 31339-2006. Результаты представлены в таблице.

Таблица

Содержание глазури в мороженой рыбе

Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 4	Образец 5	Образец 6	Норматив
5,0	11,0	2,1	9,4	1,8	3,0	≤ 5

Из таблицы 1 видно, что содержание глазури в образцах рыбы 3, 5 и 6 соответствует нормативу, указанному в ТР ЕАЭС 040/2016 (массовая доля глазури не более 5%) [4]. Тогда как, в образцах 2 и 4 массовая доля глазури превышает допустимое значение практически в 2 раза. Последнее свидетельствует о том, что продукция подвергалась повторному замораживанию, либо не соблюдались условия транспортировки мороженой рыбы.

Массовую долю влаги в рыбе (в %) определяли по методикам ГОСТ 7636-85. Результаты представлены в таблице .

Таблица

Содержание влаги в мороженой рыбе

Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 4	Образец 5	Образец 6
79,4	83,4	79,0	75,9	79,6	81,9

Содержание влаги в образцах рыбы 1, 3-6 соответствует норме (массовая доля влаги в треске не более 83%, в сельди – не более 82%) [4]. В образце 2 обнаружено незначительное превышение нормы массовой доли влаги.

Массовую долю общего фосфора в рыбе (в %) определяли по методикам ГОСТ Р 55503-2013. Результаты представлены в таблице .

Таблица

Содержание общего фосфора в мороженой рыбе

Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 4	Образец 5	Образец 6	Норматив
0,96	1,12	1,25	2,16	2,12	2,14	≤ 10

Из таблицы 3 видно, что содержание соединений фосфора во всех анализируемых образцах рыб соответствует нормативу, указанному в ТР ЕАЭС 040/2016 (массовая доля общего фосфора не более 10%) [4].

Содержание тяжелых металлов в рыбе (в мг/кг) определяли инверсионно-вольтамперометрическим методом согласно ГОСТ 33824-2016, ГОСТ 31628-2012, ГОСТ Р 56931-2016. Результаты представлены в таблице.

Таблица

Содержание тяжелых металлов в мороженой рыбе

Металл	Образец ц 1	Образец ц 2	Образец ц 3	Образец ц 4	Образец ц 5	Образец ц 6	Норматив
Cd	0,014	0,0028	0,069	≤ 0,0015	≤ 0,0015	0,093	0,0015- 1,5
Pb	0,037	0,059	0,160	0,028	0,056	0,290	0,01-6,0
As	0,120	0,160	0,200	0,170	0,170	0,240	1,0-5,0
Hg	0,031	0,035	0,110	0,140	0,0058	0,020	0,004-0,2

Из таблицы 4 видно, что содержание всех тяжелых металлов в анализируемых образцах рыб соответствует норме.

Таким образом, на основании выше изложенного, можно заключить, что рыбная продукция из Атлантического и Тихого океанов, за исключением образцов 2 и 4, полностью соответствует действующим нормативам. Продукция производителей ООО «МорФиш» и ООО «КРФ «Айсберг», вероятно, подвергалась повторному замораживанию, либо доставлялась в точки торгово-розничных сетей ненадлежащим образом.

### Список использованной литературы

1. Кристов А. Польза и вред рыбы для здоровья человека: результат анализа более 40 научных исследований. –[Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://promusculus.ru/ryba-polza-i-vred>
2. Хачатрян А. Рыба – польза или вред? Мифы и реальность / А.Хачатрян. – Новосибирск: РИЦ «Новосибирск», 2015. – 332 с.

3. ГОСТ 7631-2008 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей. Введ. 01.01.2009. – М.: Стандартинформ, 2011. – 11 с.
4. ТР ЕАЭС 040/2016 Технический регламент Евразийского экономического союза «О безопасности рыбы и рыбной продукции». Введ. 18.10.2016.

*Грачева А.А., Власова Е.А.*

## **ОЦЕНКА СОРБЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ КАЛЬЦИЙСОДЕРЖАЩЕГО КАРКАСНОГО СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ОЧИСКИ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ**

Масложировая промышленность является ведущей отраслью пищевой индустрии Российской Федерации и определяет продовольственную безопасность страны [1]. Польза растительных масел для организма человека неоценима. Масла содержат незаменимые ненасыщенные жирные кислоты, витамины групп А, D, E, K, лицептин, который полезен для укрепления нервной системы, антиоксиданты, которые очищают организм от токсинов, богаты олеиновой кислотой, которая улучшает пищеварение [2]. Растительные масла легко усваиваются организмом.

Растительные масла, как используемые непосредственно в пищу, так и направляемые на переработку, необходимо подвергать полному циклу рафинации с целью выведения вредных для организма веществ, улучшения товарного вида, повышения органолептических характеристик, а также обеспечения стойкости к окислению [3]. Высокое содержание свободных жирных кислот ухудшает вкус, придает специфический запах и снижает срок хранения продукта. Под действием кислорода воздуха и прямых солнечных лучей, растительные масла окисляются с образованием перекисей и гидроперекисей, накопление которых вызывает порчу продукта, приобретающего прогорклый вкус. Комплекс красящих веществ, представленный каротиноидами и пигментами группы хлорофилла, придающих маслу зеленовато-коричневый цвет, снижает потребительскую ценность продукта [3-5]. В связи с этим одной из важных задач масложировой промышленности является повышение качества и срока годности производимых растительных масел.

Адсорбционная рафинация является важнейшей стадией очистки масла. В настоящее время в масложировой промышленности для очистки масел наиболее широко используются алюмосиликаты (глинистые материалы и цеолиты), органические (торф, древесные опилки, жмых) [5-8].

В настоящей работе впервые изучена сорбционная способность кальцийсодержащего каркасного соединения (Ca-МОКС) для очистки нерафинированных растительных масел (оливкового и рыжикового) от свободных жирных кислот (СЖК), перекисных соединений (ПС), а также красящих веществ, представленных каротиноидами и пигментами группы хлорофилла.

*Определение содержания в масле СЖК и ПС*

Смесь масла (50 г) и сорбента (0.5 мас%), непрерывно перемешивалась в стеклянной колбе при 25<sup>0</sup>С. Пробы масла, взятые в определенные моменты времени, отфильтровывали и титровали растворами гидроксида калия (0.1 н) и тиосульфата натрия (0.01 н) [9].

*Определение содержания в масле красящих веществ*

Все эксперименты проводили в воздушной атмосфере при 25 <sup>0</sup>С, смесь масла (50 г) и сорбента (0.5 мас%), непрерывно перемешивалась в стеклянной колбе. Пробы масла, взятые в определенные моменты времени, отфильтровывали, растворяли в ацетоне в соотношении 1:4 и спектрофотометрически определяли содержание в нем хлорофиллов ( $\lambda_{\max} = 670$  нм,  $\epsilon = 10^5$  л/ (моль·см) [5]) и каротиноидов ( $\lambda_{\max} = 450$  нм [10]) в максимумах полос поглощения.

Результаты по влиянию Са-МОКС на степень извлечения свободных жирных кислот (СЖК) и перекисных соединений (ПС) из анализируемых растительных масел представлены в таблице.

Таблица

Влияние Са-МОКС на степень извлечения примесных ингредиентов из растительных масел

Масло	Степень извлечения $\alpha$ , %											
	[Са -МОКС] = 0.03 мас.%						[Са -МОКС] = 0.15 мас.%					
	СЖК			ПС			СЖК			ПС		
	Время сорбции, ч						Время сорбции, ч					
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Оливковое	.4	1.1	1.1	.35	6.0	7.8	4.8	6.7	1.1	1.7	2.3	5.2
Рыжиковое	.7	1.1	5.9	0.0	5.0	5.0	8.5	0.7	8.1	0.0	5.0	5.0

Из таблицы 1 видно, что с увеличением времени контакта масла с Са-МОКС и концентрации последнего степень извлечения СЖК и ПС растет.

Результаты по влиянию Са-МОКС на степень извлечения красящих веществ из анализируемых растительных масел представлены в таблице.

Таблица

Влияние сорбента (0.12 мас. %) на степень извлечения красящих веществ из растительных масел (контакт фаз в течение 3 ч)

Масло	Степень извлечения $\alpha$ , %	
	Каротиноиды	Хлорофиллы
Оливковое	4.2	14.3
Рыжиковое	8.8	18.8

На основании вышеизложенных данных можно сделать заключение о том, что Са-МОКС улучшает физико-химические свойства нерафинированных масел за счет связывания образующихся при окислении последних СЖК и ПС, а также красящих веществ, попадающих в масло из растительного сырья.

Результаты работы свидетельствуют о перспективности использования Са-МОКС в масложировой промышленности в качестве эффективного сорбента для очистки растительных масел.

### Список использованной литературы

1. Стопский Н.А. Химия жиров и продуктов переработки жирового сырья / Н.А. Стопский. – М.: Колос, 2007. 285 с.
2. Kyriacos D. Vegetable Oils and Fats // Biobased polyols for industrial polymers. London, 2020. P. 51-131.
3. Gunstone F.D. Production and trade of vegetable oils // Vegetable oils in food technology: Composition, Properties and Uses. London, 2011. P. 1-17.
4. Vuorte M., Vierros S., Kuitunen S., Sammalkorpi M. Adsorption of impurities in vegetable oil: a molecular modelling study // Journal of Colloid and Interface Science. 2020. V. 571. P. 55-65.
5. Стрыженок А.А. Совершенствование технологии адсорбционной рафинации растительных масел: дис. канд. техн. наук / А.А.Стрыженок. – Краснодар, 2015. – 132 с.
6. Матюшенко Н.Н. Адсорбционная рафинация растительных масел / Н.Н. Матюшенко // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства, 2016. – Т 1. – № 9. С. 123-126.
7. Михайлова О.А. Изучение структуры и свойств нативных и активированных природных минеральных сорбентов / О.А. Михайлова, Т.З. Лыгина // Физикохимия поверхности и защита материалов, 2010. – Т 46. – № 2. – С. 199-207.
8. [van Duijn](#) G. Fate of contaminants during the refining process of vegetable oils and fats: A calculation model // European Journal of Lipid Science and Technology. 2016. V. 118. № 3. P. 353-360.
9. Арутюнян Н.С. Рафинация масел и жиров: теоретические основы, практика, технология, оборудование / Н.С. Арутюнян, Е.П. Корнена, Е.А. Нестерова. – СПб. 2004. 288 с.
10. Ивахнов А.Д. Сверхкритическая флюидная экстракция хлорофиллов и каротиноидов *Laminaria digitata*/ Ивахнов, Т.Э. Скребец, К.Г. Боголицын // Химия растительного сырья, А.Д., 2014. – № 4. – С. 177-182.

## ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА КАРАМЕЛЬНОЙ ПАТОКИ

Карамельная патока является универсальным и незаменимым улучшителем всех сортов хлеба и изделий расширенного ассортимента, выпекаемых из пшеничной муки. Она используется для изготовления десертов, пряников, печенья, кремов, глазури, некоторых видов конфет, пастилы, жевательной резинки, мороженого, мармелада. Карамельная патока вырабатывается из разных видов крахмалов зерновых культур; в России - преимущественно из кукурузы и пшеницы. Для производства патоки используются различные ферменты [1].

В настоящей работе изучено влияние двух ферментов ( $\alpha$ -амилазы и глюкоамилазы) на органолептические, физико-химические и микробиологические показатели качества карамельной патоки, полученной из кукурузного и пшеничного крахмала.

Органолептический анализ патоки проводили в соответствии с ГОСТ 33917-2016. Результаты представлены в таблице .

Таблица

Органолептические показатели качества карамельной патоки

Наименование показателя	Карамельная патока из кукурузного крахмала		Карамельная патока из пшеничного крахмала		ГОСТ
	С использованием $\alpha$ -амилазы	С использованием глюкоамилазы	С использованием $\alpha$ -амилазы	С использованием глюкоамилазы	
Внешний вид	Густая вязкая жидкость	Густая вязкая жидкость	Густая вязкая жидкость	Густая вязкая жидкость	Густая вязкая жидкость
Прозрачность	Прозрачная	Прозрачная	Мутная	Мутная	Прозрачная
Вкус и запах	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Свойственный патоке, без постороннего вкуса и запаха
Цвет	Бесцветная	Бледно-желтая	Бледно-желтая	Бледно-желтая	От бесцветного до бледно-желтого разных оттенков

Из таблицы 1 видно, что патока, произведенная из пшеничного крахмала с использованием обоих видов ферментов, по показателю «прозрачность» не удовлетворяет нормам ГОСТ.

К физико-химическим показателям качества карамельной патоки относятся: массовая доля сухих и редуцирующих веществ, общей золы; рН; кислотность; содержание диоксида серы; температура карамельной пробы; удельная электрическая проводимость. Все указанные показатели определяли в соответствии с ГОСТ 33917-2016. Результаты сведены в таблицу.

Таблица

Физико-химические показатели качества карамельной патоки

Наименование показателя	Карамельная патока из кукурузного крахмала		Карамельная патока из пшеничного крахмала		ГОСТ
	С использованием $\alpha$ -амилазы	С использованием глюкоамилазы	С использованием $\alpha$ -амилазы	С использованием глюкоамилазы	
Массовая доля сухих веществ, %, не менее	78	73	78	75	78
Массовая доля редуцирующих веществ, %	40	30.6	39.6	31.2	36-44
Массовая доля общей золы, %, не более	0.2	0.4	0.5	0.6	0.4
рН	5.5	4.3	5.0	3.6	3.5-6
Кислотность	6.0	5.3	7.0	6.5	15
Содержание диоксида серы, мг/кг	7.0	8.9	2.3	1.2	40
Температура карамельной пробы, °С	145	155	145	155	145
Удельная	31.5	30	22.5	33.7	200

электричес- -кая проводимос- ть, мкСм/см, не более					
---	--	--	--	--	--

Из таблицы 2 видно, что патока, произведённая с помощью фермента глюкоамилазы, по некоторым показателям не удовлетворяет требованиям ГОСТ. Это свидетельствует о том, что данный фермент не подходит для производства данного продукта.

Значение концентрации сернистого ангидрида в патоке из кукурузного крахмала превышает таковое в патоке из пшеничного крахмала в случае использования  $\alpha$ -амилазы в 3 раза, глюкоамилазы – в 7 раз. Данный факт, вероятно, обусловлен особенностями производства, поскольку изначально зерно кукурузы замачивается в сульфаминовой кислоте.

Определение показателей безопасности патоки, произведенной с использованием исследуемых ферментов, проводили в соответствии с ГОСТ 26927-86, 26930-86, 26932-86, 26933-86, 30178-96, 30710-2001, 31747-2012, 31659-2012, ТР ТС 021/2011. Установлен факт отсутствия в обоих видах патоки тяжелых металлов, пестицидов, патогенных микроорганизмов, что соответствует требуемым нормам.

Таким образом, на основании выше изложенного, можно заключить, что использование фермента  $\alpha$ -амилазы позволяет получить карамельную патоку высокого качества, тогда как фермент глюкоамилаза, обеспечивающий низкое качество, не пригоден для получения данного продукта. Патока, полученная из пшеничного крахмала, уступает по некоторым органолептическим и физико-химическим показателям патоке, полученной из кукурузного крахмала.

#### Список использованной литературы

1. Сизова Ю.В., Борисова Е.Е., Гришин Н.Е. Использование ферментных препаратов для приготовления зерновой патоки // Вестник МГАУ. 2019. С. 115-117.

*Кульгавеня А.Д., Никандров В.Н.*

#### **ВЛИЯНИЕ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА И НЕОРГАНИЧЕСКОГО ОРТОФОСФАТА НА КАЗЕИНОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ГОМОГЕНАТОВ МИЦЕЛИЯ КУЛЬТУРЫ *PLEUROTUS OSTREATUS***

Актуальность. В последние десятилетия выявлен существенный дефицит белка в рационе питания населения. Более того, на кормовые, семенные и непищевые цели может направляться до 28% белка, потенциально пригодного в пищу человека. К тому же стоимость

высококачественных животных белков непрерывно растет. К 2050 году мировому сообществу потребуется 1.250 миллионов тонн мяса и молочных продуктов в год. Одним из альтернативных источников являются грибы, содержащие 30–50% белков с аминокислотным составом сопоставимым с рекомендациями ФАО (FAO) [1, 2].

Глубинное культивирование съедобных базидиальных грибов, включая вешенку обыкновенную – *Pleurotus ostreatus* (хотя она и уступала некоторым другим грибам по содержанию белка в биомассе), было начато более 70 лет назад [3].

Как мы уже отмечали, интенсификация технологии получения обогащенного белками мицелия настоятельно диктует необходимость уяснения биологии этого продуцента и, в частности, систем регуляции метаболизма и жизнедеятельности, к числу которых относится протеолиз [4].

Судя по расщеплению желатина, казеина, гемоглобина, рН-зависимости их расщепления и действию группоспецифических ингибиторов протеиназ у *Pleurotus ostreatus* имеется многоплановый набор протеиназ, включающих сериновые, цистеиновые, аспартильные и металлозависимые. При этом максимальная казеинолитическая активность протеиназ вешенки проявилась при рН 2,8, 5,2 и 8,2 [5].

Среди метаболической регуляции протеолитических процессов были описаны феномены подавления активности аденозинтрифосфатом (АТФ) и «фосфатный эффект» [4, 6]. В отношении протеиназ вешенки, судя по литературе, подобные исследования не проводились.

Цель настоящей работы – уяснить проявление этих феноменов при расщеплении казеина протеиназами мицелия вешенки.

Материалы и методы. В работе использовали бактоагар (Melford, USA), АТФ-динатриевую соль (Carl Roth, Германия), казеин по Гаммерстену (Россия). Остальные реактивы были квалификации «хч» производства стран СНГ.

Исследования выполнены на «диком» штамме *Pleurotus ostreatus* [5].

Глубинное культивирование мицелия вешенки вели на картофельно-сахарозной среде в конических стеклянных колбах емкостью 500 мл при температуре 27 °С в течение 14 сут. на качалке модели Wise Shake SHO-2D и режиме перемешивания – 70 об/мин. как описано нами в предыдущей статье [5]. По окончании культивирования мицелий гриба отмывали, максимально просушивали на фильтровальной бумаге, навески по 0,5 г помещали в пробирки типа эппендорфа.

Протеолитическую активность определяли по расщеплению белков-субстратов в тонком слое агарового геля как подробно описано ранее [7]. В качестве растворителя при приготовлении белок-агаровых пластин использовали 0,15 М раствор NaCl рН 7,4. Для исследования мицелий (0,5 г) гомогенизировали в 0,5 мл бидистиллированной воды при 4 °С и центрифугировали при 4 °С и 8000 об/мин в течение 10 мин. К образцам осветленного гомогената добавляли 0,2 М ацетатный буфер рН 2,8 или 5,2

или 0,1 М боратный буфер pH 8,2. Неорганический ортофосфат ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  или  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) или АТФ вносили в исследуемые образцы до конечной концентрации 0,001–0,06 М или  $10^{-8}$ – $10^{-2}$  М соответственно.

Все исследования проведены не менее, чем четырехкратно. Результаты обработаны статистически с использованием программ *Statistica 6.0* по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Добавление неорганического ортофосфата вызвало рост казеинолитической активности протеиназ вешенки при pH 8,2 лишь на 21% (рисунок).

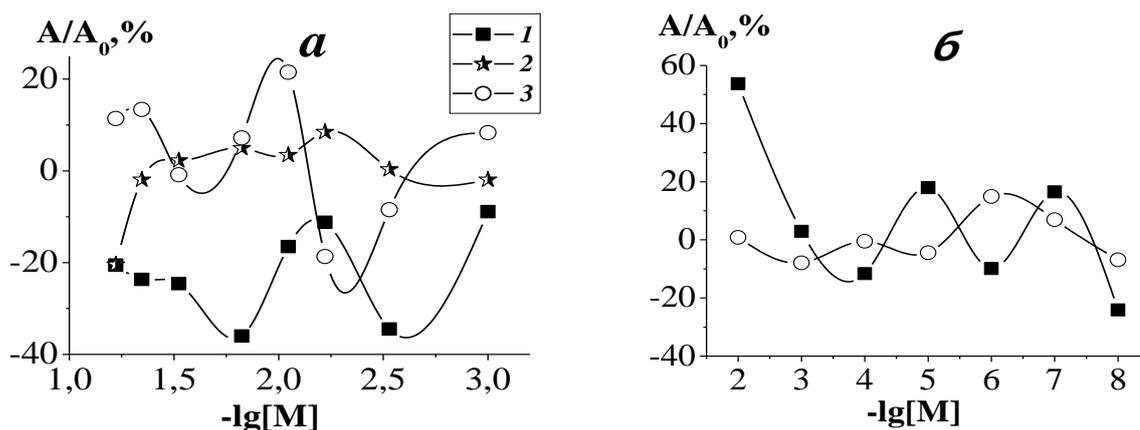


Рисунок – Влияние ионов неорганического ортофосфата (а) и аденозинтрифосфата (б) на расщепление казеина гомогенатами мицелия *Pleurotus ostreatus* при pH 2,8 (1), 5,2 (2) и 8,2 (3)

В ряде остальных случаев наблюдали отсутствие эффекта или даже подавление казеинолиза, достигавшее 36%. Введение в реакционную систему АТФ сопровождалось умеренным угнетением протеолитической активности как раз при pH 2,8 – на 30%. Как было отмечено ранее, эффект АТФ и ортофосфата зависит от вида протеиназы, а также белка субстрата [6]. Это позволяет думать, что при использовании других белков в качестве субстратов эффекты неорганического фосфата или АТФ могут быть значительно демонстративнее. В предыдущих статьях на низкоскоростном супернатанте гомогенатов клеток *Chlorella vulgaris* и культуральной жидкости выделенного из зерна *Aspergillus sp.* было показано проявление обоих упомянутых феноменов. Однако это проявление имело свои особенности [8, 9].

Заключение. Приведенный небольшой фрагмент исследований, разумеется, не может служить каким-либо опровержением феноменов ингибирования реакций протеолиза АТФ или «фосфатного эффекта» в протеолизе. Он лишь является иллюстрацией того, насколько многообразен «мир» протеиназ и протеолитических процессов. Поскольку эффекты АТФ и неорганического ортофосфата существенно зависят от используемого белка-субстрата, в данном аспекте логично продолжение работ с иными белками для протеиназ *P. ostreatus*.

### Список использованной литературы

1. Кудинов П.И. Современное состояние и структура мировых ресурсов растительного белка / П.И. Кудинов, Т.В. Щеколдина, А.С. Слизькая // Изв. вузов. – Пищ. технол., 2012. – № 5–6. – С. 7–10.
2. Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. Single cell protein – state of the art, industrial landscape and patents 2001–2016. *Frontiers in Microbiol.*, 2017. – Vol. 8. art. 2009. – P. 1–18.
3. Стахеев И.В., Коломиец Э.И., Здор Н.А. Биотехнология малотоннажного производства микробного протеина. Минск: Навука і тэхніка, 1991. – 264 с.
4. Nikandrov V.N., Pyzhova N.S. Some unusual manifestation of proteolysis. *Cellular and Molecular Biology*, 2006. – vol. 52, № 4. – P. 30–39.
5. Кульгавеня А.Д. Протеолитическая активность мицелиальной культуры гриба вешенка обыкновенная *Pleurotus ostreatus* при глубинном культивировании / А.Д. Кульгавеня, В.Н. Никандров // Вестник Полесского государственного университета. – Сер. Природоведения, 2020. – № 1. – С. 12–23.
6. Пыжова Н.С. Влияние биогенных фосфатов на расщепление белков протеиназами и функцию активаторов плазминогена / Н.С. Пыжова, В.Н. Никандров // Биоорг. Химия, 2008. – Т. 34, № 3. – С. 382–391.
7. Никандров В.Н. Методы исследования протеолиза / В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова / Современные проблемы биохимии. Методы исследований. – Минск: Выш. шк., 2013. – С. 132–157.
8. Никандров В.Н. Физико-химические особенности реализации протеолитических процессов клетки *Chlorella vulgaris* / В.Н. Никандров, И.А. Ильючик // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2018. – Т. 3, № 3. – С. 654–664.
9. Ильючик И.А. О проявлении «фосфатного эффекта» в протеолизе: расщепление белков протеиназами культуральной жидкости *Aspergillus sp.* в присутствии неорганического ортофосфата. Менделеевские чтения-2019 / И.А. Ильючик, В.Н. Никандров // Сб. матер. республ. науч.-практ. конф. по химии и хим. образованию». – Брест, 2019. – С. 61–66.

*Павлюкевич Д.С., Панова Н.В.*

### ПРИМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАТА ЭНОКРАСИТЕЛЯ ДЛЯ ОКРАШИВАНИЯ ОТДЕЛОЧНЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ

История изготовления кондитерских изделий гласит, что до 1976 года в кондитерских цехах предприятий общественного питания для окраски некоторых отделочных полуфабрикатов, таких как: крема, помад, желе, широко используют синтетический красный краситель амарант. Однако именно с того года, использование добавки E123 было запрещено по причине подозрения в канцерогенности. По этой причине органы здравоохранения настойчиво требуют замены амаранта безвредным

пищевым красителем растительного происхождения. Аналог Н.М. Рудневым и Б.И. Леоновым был предложен ещё в 1960 году, но многие продолжали использовать Е123. Заменитель представлял собой солянокислый экстракт из выжимок красных сортов винограда, названный энокрасителем. Экстракт энокрасителя выпускался Краснодарским витаминным комбинатом. Несмотря на то что энокраситель прошел необходимые испытания и был разрешен органам здравоохранения для использования в кондитерском производстве как заменитель амаранта, до последнего времени применение его очень ограничено.

Несмотря на все положительные стороны аналога, его основным недостатком экстракта производственного энокрасителя является его индикаторное свойство. Для получения темно-вишневой и ярко-розовой окраски кондитерских изделий уровень рН среды должно быть не выше 4. В случае, если данный показатель больше 4, окрас становится менее насыщенным, принимая светло-красный, темно-фиолетовый и даже сине-зеленый кислот

С целью избежания подобных ситуаций, для окраски карамельной и зефирной массы было рекомендовано к экстракту энокрасителя добавлять некоторое количество лимонной кислоты.

По данным проведенного исследования профессором Б.В. Кафки и его сотрудниками, для окраски мучных кондитерских изделий, кремов, помад, тянучек, не подкисляемых пищевыми кислотами, применение экстракта энокрасителя не рекомендуется, поскольку окрашенные им изделия приобретают темно-синюю окраску.

С учётом выявленных недостатков солянокислого экстракта производственного энокрасителя, лабораторией органической химии. В процессе использования методики выделения из экстракта энокрасителя концентрата красящих, дубильных и ароматных веществ был выявлен солянокислый экстракт энокрасителя с удельным весом 1,145, доля содержания красящих веществ составила 65,1 г/л. В ходе проведения исследования данное вещество было подвергнуто обработке 96 % -ым этанолом, предварительно насыщенным сернистым ангидридом. Пропорции осуществления данной реакции составили 0,3 литра этанола с 3-х % содержанием сернистого ангидрида на 0,5 литра экстракта производственного красителя. Из экстракта в раствор переходили растворимые в эталоне красящие, дубильные и ароматные вещества. Соли же винной, соляной кислот и пектиновые вещества, нерастворимые в эталоне, осаждались и отделялись на стадии фильтрования. Затем этанольный раствор подвергался десульфидации. Из него отгонялись избыток этанола, частично вода и соляная кислота, в результате чего был получен концентрат красящих дубильных и ароматных веществ, входящих в производственный энокраситель. В дальнейшем отогнанный этанол сушился над безводным сульфатом меди или окисью кальция и снова использовался для обработки новых порций экстракта производственного энокрасителя.

Полученный в ходе концентрации удельный вес энокрасителя повысился до 1,164, содержащее красящих веществ достигло 87,51 г/л, рН 3% -ого водного раствора 2,11. Полученные показатели были определены с опорой на методику профессора Б.В. Кафки.

Первое испытательное применение полученного концентрата проводилось в кондитерском цехе ресторана «Донбасс» в г. Донбасе. В результате испытаний в производственных условиях установлено, что зефирную массу, помады, белковые кремы можно окрашивать выделенным концентратом энокрасителя без добавления пищевых кислот. Так, с целью получения насыщенного оттенка 1кг зефирной массы расход концентрата энокрасителя составляет 0,003 л. Также было отмечено, что при окрашивании массы концентратом синеватый оттенок не появлялся. Помадная масса хорошо окрашивается экстрактом в розовый цвет без добавок лимонной кислоты. Для окраски 1кг помадной массы требуется 0,015 л концентрата энокрасителя. Вполне удовлетворительные результаты получены также при окраске белкового крема без добавления лимонной кислоты. Расход концентрата в этом случае составил 0,004 л на 1 кг крема.

Однако масляный крем, окрашенный концентратом энокрасителя без добавления лимонной кислоты, приобретал синеватый оттенок. Здесь, по-видимому, сказывается влияние солей калия, магния и кальция, содержащихся в молоке. Для предотвращения появления синеватой окраски рекомендуется вводить небольшие добавки лимонной кислоты в подогретый до 50-60 градусом по Цельсию концентрат энокрасителя. Так для получения необходимого оттенка без синевы, в 1 кг масляного крема необходимо добавить к 0,025 л концентрата энокрасителя и 0,17 г лимонной кислоты. Стоит отметить, что добавление такого количества кислоты не оказывает влияние на качество крема.

Как показывали проведенные исследования, органолептические свойства всех кондитерских изделий, окрашенных концентратом энокрасителя, не ухудшилось. Напротив, изделия приобрели легкий, приятный аромат, характерный для ароматных веществ, входящих в состав винограда.

Таким образом, на основе проведенных в производственных условиях испытаний установлено, что концентрат энокрасителя с успехом может быть применен вместо амаранта для окрашивания зефирной массы, помады, белкового крема без добавления пищевых кислот, а окрашивания масляного крема с добавкой небольшого количества лимонной кислоты, не окажет негативного влияния на его качество.

### **Список использованной литературы**

1. Кафка Б.В. Энокраситель и его применение при окрашивании кондитерских изделий / Б.В. Кафка, Г.А. Лядова и Р.Д. Норманова. – М.:Пищепромиздат, 1963.

2.Руднев Н.М. Энокраситель и его применение в кондитерской промышленности / Н.М. Руднев // Хлебопекарная и кондитерская промышленность, 1962. – №2.

*Панова Н.В.*

## **СОВРЕМЕННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

Постоянный прирост населения заставляет специалистов в области пищевых биотехнологий искать новейшие направления в науке для восполнения недостатка пищевых ресурсов.

Создание первого синтетического пищевого продукта во второй половине прошлого столетия под названием «Искра» (от слияния двух слов «искусственная» и «икра») послужило толчком к развитию пищевой индустрии с использованием биотехнологий. К сожалению, первый имитационный продукт был получен без использования биотехнологических процессов. Основным ингредиентом разработанного деликатеса стало куриное яйцо. Главной целью создания данного продукта была доступность лакомства для каждого человека. Технология изготовления дешевого деликатеса представляла собой двухэтапное производство. На первом этапе проводилось формирование икринок из белковой основы. Второй этап заключался в погружении сформированных икринок в разогретое растительное масло [1].

В настоящее время современные биотехнологии позволяют синтезировать мясную продукцию без использования мяса животных. Для создания мышечных волокон в 2013 году в Нидерландах в лабораторных условиях использовались стволовые клетки свиньи. В результате была выращена часть мышечной ткани общим весом 140 г. Технология культивирования животных клеток основывается на использовании специально разработанных питательных сред, которые полностью соответствуют потребностям развивающихся миобластов, которые в последствии дифференцируются в миоциты. В настоящий момент экспериментаторы разрабатывают технологию, которая позволила бы им подвергать мышечные волокна физической нагрузке для придания им упругой консистенции и улучшения вкусовых характеристик. Исследователи считают, что по вкусовым качествам «мясо из пробирки» не уступает настоящему [3].

На сегодняшний день основным биообъектом в технологии получения искусственного мяса являются животные клетки, полученные из сыворотки крови. Огромным недостатком этой технологии является невозможность получения упругих мышечных волокон. Искусственное мясо представляет собой скопление миоцитов с рыхлой консистенцией. Поэтому из такой субстанции проще и дешевле изготавливать фарш. Так килограмм говяжьего фарша стоит \$7,2, то есть почти в 10 раз дешевле, чем мясо из пробирки.

Совершенствование методик позволяет сделать искусственное мясо доступным пищевым ресурсом для обычных покупателей.

На сегодняшний день около 10 компаний планируют выпуск искусственных животных продуктов. Memphis Meats – стартап фирмы «Хайтек» по выпуску колбасной продукции на основе искусственного мяса. Исследователи планируют выращивать в лабораторных условиях стейки и куриное филе [3].

Экологи и вегетарианцы активно поддерживают продолжение исследований в этой области. По данным ООН, сельскохозяйственные животные выделяют в атмосферу до 18 % метана. Этот газ превосходит углекислый газ по способности усиливать парниковый эффект, а для производства одного гамбургера требуется 2500 литров воды. Лабораторное мясо даже с использованием клеток животных значительно сократит вредное воздействие на окружающую среду. От одной курицы можно получить столько клеток, чтобы изготовить 10 триллионов наггетсов. Продукты, полученные с помощью биотехнологий найдут своих покупателей по моральным убеждениям, что поможет сохранить жизнь многих животных.

Японские ученые для изготовления искусственного мяса использовали нетрадиционный подход и пошли от обратного. Мицуюки Икеда с сотрудниками биотехнологической лаборатории из префектуры Окаяма на острове Хонсю использовали для создания искусственного мяса огромные массы нечистот японских городов. Исследования начались по заказу представителей предприятия по переработке сточных вод. Экспериментаторы изучили микробиологические популяции придонного ила и выявили огромное количество микроорганизмов, способных синтезировать протеины утилизируя человеческие отходы. Обитатели придонного ила были культивированы в лабораторных условиях для получения из них белка, который не имеет ни вкуса, ни запаха. Для придания белковой субстанции приятного вкуса, аромата и цвета ученые использовали усилитель вкуса, красители и ароматизаторы. Своё творение ученые назвали шитбургеры. Полученный продукт является низкокалорийным и имеет сбалансированный химический состав. Однако, проблема ученых заключается в популяризации полученной мясной продукции, потому что не все могут употреблять такой продукт по этическим и моральным убеждениям.

Белково-витаминные препараты, которые можно использовать для обогащения искусственно выращенной пищи возможно получать из нефтепродуктов, переработанных с помощью микроорганизмов. Создание предприятий, основанных на микробиологическом синтезе, увеличивает количество возможных сырьевых ресурсов, позволяя использовать в пищевой промышленности ненужные субстанции. Использование такой продукции в пищевой отрасли, позволяет существенно экономить ресурсы за счет отсутствия стадии производства в животноводческой отрасли. Затраты на корма в животноводстве составляют 80% от выхода животноводческой продукции. Соответственно, переработка кормовых субстанций

(растительного и микробного происхождения) непосредственно в пищевую продукцию позволяет использовать эти ресурсы более эффективно в несколько раз [2].

На сегодняшний день самый быстрый путь получения белковых веществ в животноводстве – это птицеводство. Например, выращивание цыплят бройлеров возрастом до 10 недель. Микробный синтез оставляет далеко позади наиболее выгодную отрасль животноводства. Микроорганизмы интенсивно растут и размножаются. С той же скоростью образуется в них и белок, составляющий до 60 % микробной массы. Биосинтез белка у животных протекает в сотни раз медленнее, чем у микроорганизмов. Даже частичное использование в питании человека продуктов микробиологического синтеза выгодно с точки зрения интенсификации производства и сохранения животноводческой продукции.

Плюсы использования технологий, основанных на микробной ферментации, состоят в следующем:

1) независимость производственного процесса от внешних факторов (стихийные бедствия, недостаток кормового сырья, эпидемии и эпизоотии в животноводстве, климатические условия)

2) процесс ферментации протекает в специализированном оборудовании и полностью контролируется человеком.

Сегодня достигнуты большие успехи в производстве мяса птицы, свинины, говядины. Но в этой отрасли главное – корма, а для их производства необходимы большие сельскохозяйственные угодья, подверженные воздействию внешних факторов различной этиологии. Поэтому пищевая биотехнология будет интенсивно развивать технологии, тесно связанные с микробиологическим синтезом и генетической инженерией для восполнения недостатка пищевых ресурсов.

### **Список использованной литературы**

1. Устинова А.В. Функциональные продукты на мясной основе / А.В. Устинова, Н.Е. Белякина // Все о мясе, 2010. – №3. – С. 4-7
2. Шугурова Т.Б. Ресурсосберегающие технологии в мясопереработке / Т.Б. Шугурова // Мясные технологии, 2010. – № 3. – С. 5-7.
3. Ученые вырастили в лаборатории искусственное мясо: Наука и техника [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://lenta.ru/news/2009/12/01/meat/> – Дата обращения: 01.03.2021

*Подорожня И.В., Ветохин С.С.*

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КИСЛОТНОСТЕЙ РЯЖЕНОК, ИЗГОТОВЛЕННЫХ ИЗ СУХОЙ ЗАКВАСКИ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ, С ТРЕБОВАНИЯМИ СТАНДАРТА**

Кисломолочные продукты, в частности ряженки, домашнего производства набирают популярность у населения. От вида используемых

микроорганизмов закваски зависят органолептические свойства (консистенция, цвет, запах, вкус и др.) конечного продукта. Национальным законодательством предъявляются требования к кислотности того или иного кисломолочного продукта, информация о которой не отражена ни на потребительской упаковке, ни в литературных источниках [1]. Поэтому оценка соответствия ряженки домашнего производства предъявляемым законодательным требованиям является актуальной задачей как для потребителей, так и для государства в целом.

Цель работы заключалась в сравнении титруемой и активной кислотностей ряженки, полученных в лабораторных условиях с требованиями национального стандарта.

В рамках поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- отобрать в торговой сети Минска сухую закваску для приготовления ряженки;
- найти и подготовить молоко для внесения культур микроорганизмов закваски;
- исследовать титруемую и активную кислотности в процессе сквашивания образцов;
- определить возможные взаимосвязи между исследованными показателями;
- сравнить полученные результаты с требованиями национального стандарта.

В работе применены следующие методы исследований: титруемую кислотность определяли методом с применением индикатора фенолфталеина по [2]; активную кислотность устанавливали при помощи потенциометрического метода с использованием рН-метра милливольтметра рН-150М (РБ) по [3].

Объектами исследований выступали ряженки, приготовленные в лабораторных условиях из отечественного сырья: ультрапастеризованного питьевого коровьего молока 2,5% жирности объемом 1000 мл в пластиковых бутылках и сухой закваски молочнокислых микроорганизмов (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*), изготовленной РУП «Институт мясо-молочной промышленности» с дозой внесения 0,7 г/л (не менее  $10^9$  КОЕ/г).

Приготовление ряженки в лабораторных условиях проводилось путем ферментации ультрапастеризованного молока в потребительской таре с использованием соответствующей сухой закваски молочнокислых микроорганизмов, не требующей применения топленого молока. Молоко в пластиковых бутылках перед внесением закваски подогревалось на водяной бане и имело температуру от 37°C до 39°C. Каждый пакетик сухой закваски пятикратно ополаскивался используемым молоком с возвращением полученной смеси обратно в бутылку. Проводилось параллельное приготовление ряженки из двух пакетиков сухой закваски двух различных партий. Температура культивирования 37°C, продолжительность – до получения одинаковых

значений двух последовательных измерений титруемой кислотности хотя бы у одного из параллельных образцов (в одной партии сухой закваски). Для проведения испытаний содержимое бутылок тщательно перемешивалось в закрытом состоянии, в том числе при образовании сгустка. Максимально избегая попадания посторонних микроорганизмов извне отбирались образцы молочной смеси и вновь закрытые бутылки возвращались в термостат.

Результаты исследования активной кислотности процесса ферментации каждой молочной смеси по отдельности приведены на рис 1. В таблице приведены средние значения данных показателей ряженки, изготовленных в лабораторных условиях

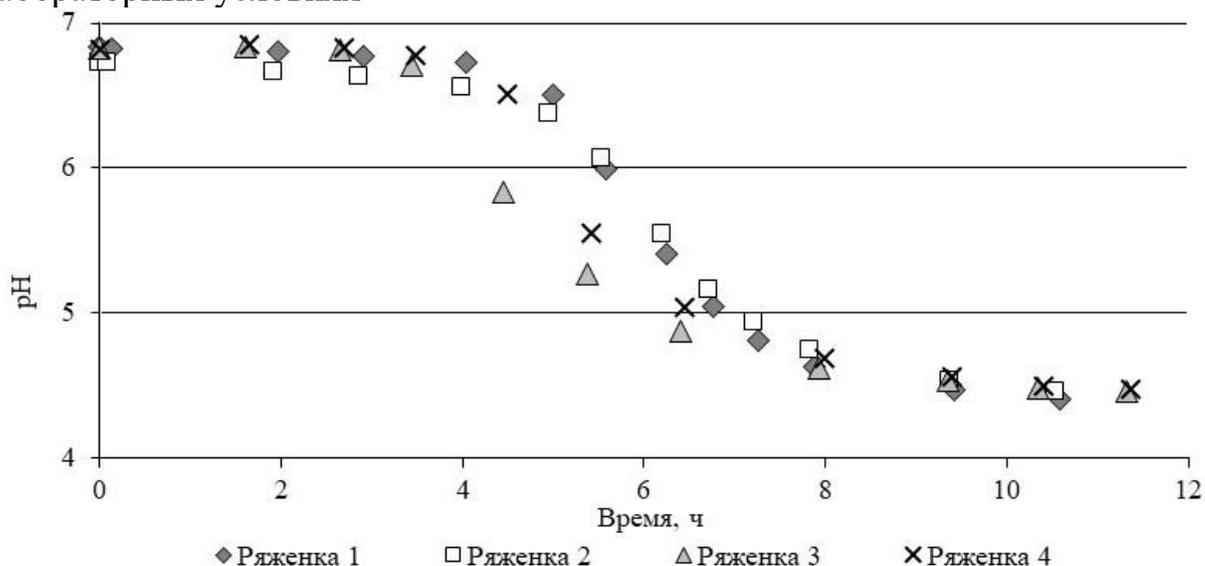


Рис.1. Изменение рН каждой молочной смеси при культивировании

Таблица  
Средние значения физико-химических показателей ряженки в конце сквашивания

Показатели	Полученные результаты по каждому номеру образца			
	1	2	3	4
Время сквашивания, ч	10,58	10,53	11,32	11,37
Титруемая кислотность, °Т	89,0±1,0	88,0±1,0	86,0±1,0	86,0±1,0
рН	4,41±0,04	4,46±0,04	4,46±0,04	4,48±0,04

Графическая зависимость рН от титруемой кислотности всех образцов молочной смеси в процессе ферментации приведена на рис. 2.

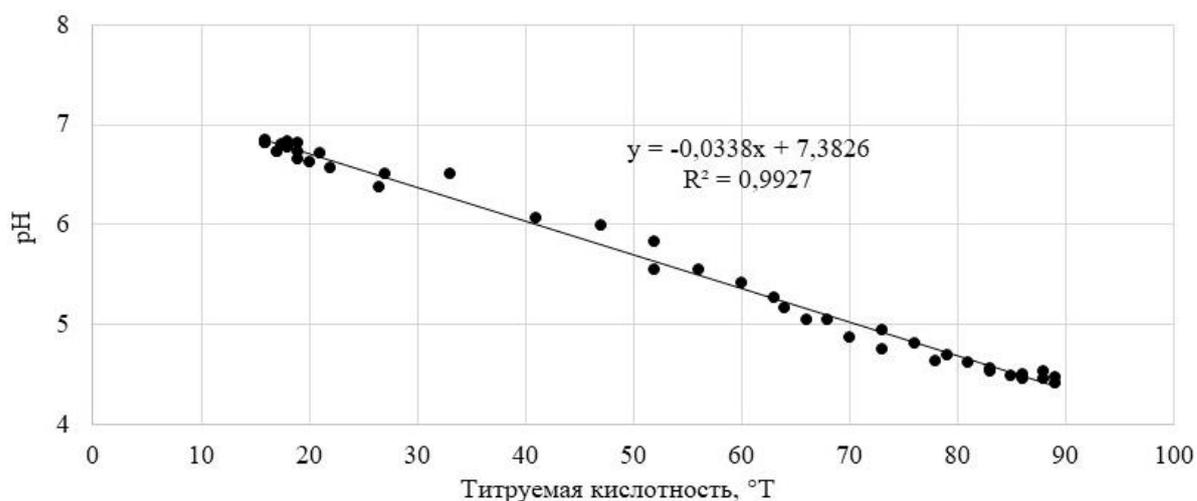


Рис. 2. Общие зависимости pH от титруемой кислотности при культивировании молочной смеси

Учитывая, что требованиями национального стандарта уровни титруемой кислотности ряженки составляют от 70°Т до 110°Т, а pH – от 4,0 до 4,8, то все изготовленные образцы ряженки соответствуют требованиям стандарта [1]. Для достижения минимальных значений титруемой кислотности потребовалось около (7±0,5) часов, а активной кислотности – приблизительно на полчаса дольше, что обусловлено буферными свойствами молока.

Проведенные эксперименты показали, что между значениями активной и титруемой кислотностями молочных смесей как по отдельности, так и совокупно, с высокой достоверностью существует линейная зависимость.

Выводы. Приготовленные ряженки имеют титруемую кислотность свыше 85°Т и pH в диапазоне от 4,41 до 4,48.

Сухие закваски для приготовления ряженки в домашних условиях позволяют получить готовый продукт с кислотностью соответствующий законодательным требованиям.

Обнаружена линейная зависимость между значениями активной и титруемой кислотностями ряженки в процессе создания в лабораторных условиях.

### Список использованной литературы

1. Продукты кисломолочные. Общие технические условия : СТБ 2206-2017. – Введ. 01.03.2018 (взамен СТБ 2206-2011). – Минск : Белорус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2017. – 13 с.
2. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности: ГОСТ 3624-92. – Введ. 01.01.94 (взамен ГОСТ 3624-67). – Минск : Белорус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2007. – 12 с.
3. Молоко. Метод измерения pH : ГОСТ 26781-85. – Введ. 01.01.87 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/gost-26781-85>. – Дата доступа: 25.03.2021.

*Попов Е.С., Пожидаева Е.А., Шолин В.А., Черкасова Н.С.*  
**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ  
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ БИОКОРРЕКТОРОВ**

Нормофлора человека сегодня рассматривается как интегральная часть организма, его уникальный экстракорпоральный орган, эксклюзивно обеспечивающий ряд важнейших функций, вследствие многообразия клеточного метаболизма бактерий нормальной микрофлоры, в морфогенезе и функциях различных систем организма хозяина участвуют ферменты, витамины, гормоны, и другие биологически активные соединения микробного происхождения [1-4].

В качестве потенциальных пребиотических компонентов молочно-растительных систем для эффективного синтеза пробиотических микроорганизмов и обеспечения благоприятных условий для реализации их метаболической активности были приняты мука из топинамбура, мука из овсяных отрубей, мука из пшеничных отрубей, мука семян тыквы, мука семян льна. Выбор данных компонентов был обусловлен широким спектром их биокорректирующего воздействия на функции организма, а также наличием в их составе соединений, представляющих собой пребиотические питательные вещества, необходимые для развития консорциумов пробиотических микроорганизмов и активизации синтеза микробных экзополисахаридов [5, 6]. Сочетание данных добавок с пробиотическими микроорганизмами позволит получить синбиотические продукты, обладающие более выраженным положительным действием на биоценоз человека.

Целью работы является изучение возможности наращивания биомассы пробиотических микроорганизмов на основе молочных субстратов, содержащих муку из топинамбура, пшеничных отрубей, семян тыквы, семян льна.

Объектом экспериментальных исследований являлся консорциум пробиотических микроорганизмов, включающий *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*.

Для исследования процессов ферментации, проводили активацию консорциума пробиотических микроорганизмов в 100 мл подвергнутого стерилизации (температура  $121 \pm 2^\circ\text{C}$  выдержка  $13 \pm 2$  мин) и охлаждению до температуры  $(39 \pm 1)^\circ\text{C}$  обезжиренного молока или сыворотки, или питьевой воды с последующим внесением 0,7 г сухой закваски. Для активации микробных клеток концентрат тщательно перемешивали и выдерживали в течение 4,0 ч при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Через 1 и 2 ч после начала активизации, бактериальную суспензию еще раз перемешивали (встряхиванием) для равномерного распределения бактериальных клеток по всей массе. Полученный активизированный концентрат (без образования сгустка) сразу после активизации вносили при перемешивании в

пастеризованное ( $92 \pm 2$  °С, выдержка 2-8 мин) и охлажденное (37-42 °С) молоко, содержащее исследуемые биологически активные пищевые добавки в диапазоне концентраций 1-9 %. Обогащающие добавки вносили в молоко перед пастеризацией перед кипячением, при 30-35°С, верхний предел количеств биологически активных вносимых компонентов в конечных продуктах соответствовал 20-100% рекомендуемой суточной нормы их потребления со 100 г продукта.

В процессе термостатирования контролировали изменение титруемой кислотности и концентрацию пробиотических микроорганизмов в активной форме.

В результате проведенных исследований установлена возможность получения биомассы консорциума на основе *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, с содержанием активных клеток не менее  $10^9$  КОЕ/мл. Наиболее оптимальная концентрация растительных биодобавок составила 4,5-5,0 %, продолжительность процесса ферментации до гелеобразования (рН 4,6) составила для муки из топинамбура – 6,0 час, отрубей пшеничных – 5,5 час, семян тыквы- 6,5 час, семян льна – 5,0 час.

Доказаны пребиотические свойства и стимулирующее влияние муки из топинамбура, пшеничных отрубей, семян тыквы, семян льна на скорость ферментирования, интенсивность кислотообразования и рост биомассы пробиотических микроорганизмов в молочных субстратах.

Определены стартовые количества и режимы ферментирования, обеспечивающие достижение концентрации активных клеток  $10^9$  КОЕ/мл для консорциума *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*.

Обоснованы концентрации растительных биокорректоров – 3-5% в молочных системах, обеспечивающие достижение концентрации пробиотических микроорганизмов в ферментируемых системах не менее  $10^9$  КОЕ/мл.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (соглашение 19-76-10023).

### Список использованной литературы

1. Ардатская, М. Д. Дисбактериоз кишечника: понятие, диагностика, принципы лечебной коррекции / М. Д. Ардатская // *Consilium medicum*. – 2008. – Т. 8(10). – С. 86-92.
2. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked randomised, placebo-controlled trials / SG Sazawal, U Hiremath, P Dhingra, P Malik, S Deb, RE Black // *Lancet Infect Dis*. – 2006. – Vol. 6, P. 374.
3. Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: adhesion properties, competition against

enteropathogens and modulation of IL-8 production / M. Candela [et al.] // Int. J. Food Microbiol. – 2008. – Vol. 125. – P. 286-292.

4. Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis/ C W. Van Niel [et al.] // Pediatrics. – 2005. – Vol. 109. – P. 678 -684.

5. Родионова, Н.С. Функциональные композиции биокорректирующего действия на основе продуктов глубокой переработки низкомасличного сырья / Н.С. Родионова, Е.С. Попов, Е.А. Пожидаева, Т.Н. Колесникова // Пищевая промышленность. – 2017. – № 6. – С.54–56.

6. Родионова, Н. С. Нутриентные корректоры пищевого статуса на основе продуктов глубокой переработки низкомасличного сырья : монография / Н.С.Родионова, Е. С. Попов, О. А. Соколова. – Воронеж. гос. ун-т. инж. технол. – Воронеж, 2016. – 240 с.

*Попов Е.С., Разинкова Т.А.,  
Шолин В.А., Власенко Б.Н.*

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ НИЗКОЛАКТОЗНЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ**

Стремительное повышение осведомленности потребителей о рынках инновационных продуктов, необходимость улучшения здоровья в условиях негативного влияния образа жизни (стресс, ограничение физической активности, некачественные продукты питания) и возрастающей частоты самолечения являются факторами роста спроса потребителей на молочные продукты функционального назначения. Тем не менее, потребление вышеуказанных продуктов питания остается ограниченным для ряда групп населения вследствие фактора непереносимости лактозы. Около 75% взрослого населения мира страдает непереносимостью лактозы [1, 2].

Обзор научных источников показал, что в настоящее время существует 4 основных подхода для ослабления явлений мальабсорбции лактозы:

- ограничение потребления лактозосодержащих продуктов;
- потребление продуктов с низким содержанием лактозы, – в том числе продуктов с гидролизованной лактозой;
- прием фермента в период употребления лактозосодержащих продуктов;
- потребление молочных продуктов, содержащих жизнеспособные бактерии которые обладают выраженным потенциалом доставки  $\beta$ -галактозидазы в кишечный тракт. До настоящего времени безлактозная диета (менее 3 г лактозы в день) является наилучшим методом лечения людей, страдающих непереносимостью лактозы.

Тем не менее, несмотря на простоту решения проблемы, полный отказ от употребления продуктов, содержащих лактозу, требует от пациента непрерывного самоконтроля, что может вызывать ощущение социальной изоляции и давления непреодолимых обстоятельств. Поскольку большинство молочных продуктов, представленных на рынке, содержат

лактозу, отказ от подобных продуктов требует полного изменения образа жизни, что может быть неосуществимо для всех [3, 4].

Принимая во внимание вышеизложенные факты, считаем актуальным направление научных исследований, посвященное разработке функциональных продуктов с пониженным содержанием лактозы, предназначенных для различных возрастных групп.

Целью работы является научное обоснование технологий новых низколактозных пробиотических пищевых систем.

В рамках поставленной цели решались следующие задачи:

- обобщить результаты информационно-патентного поиска в области производства низколактозных пищевых систем;

- оценить влияние биосинтеза массы консорциумов пробиотических микроорганизмов и ферментных препаратов на процесс гидролиза лактозы, обосновать режимы получения безлактозных пробиотических пищевых систем.

Полученные результаты в ходе аналитического обзора литературных источников свидетельствуют о недостаточности экспериментальных данных о процессе гидролиза лактозы в комплексе с ферментацией молочных сред различными консорциумами пробиотических микроорганизмов. В связи с этим цель исследования состояла в изучении возможности снижения концентрации лактозы и одновременном наращивании биомассы пробиотических микроорганизмов в кислото-молочной среде.

Объектами экспериментальных исследований являлось молоко обезжиренное с внесением фермента *Violactase L20* в диапазоне концентраций 10-40 ед/г и термостатированное в интервале температур 30-38 °С; биомасса консорциума бифидобактерий (*Str. thermophilus*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*), а также образцы данных консорциумов с введением фермента *Violactase L20* культивированные в диапазоне температур 30-38 °С с достижением концентрации активных клеток в диапазоне  $10^7$ - $10^9$  КОЕ/мл. В качестве питательного субстрата использовали молоко коровье обезжиренное ГОСТ Р 53503-2009. В качестве контрольного принят образец биомассы консорциума бифидобактерий синтезированный при оптимальном температурном режиме - 38 °С.

Известно, что оптимальный температурный диапазон наибольшей активности ферментного препарата, в данном случае *Violactase L20*, составляет от 30 до 45 °С, в то время как оптимальный температурный режим культивирования биомасс консорциумов лакто – и бифидобактерий составляет 36-38°С. В связи с этим проведена оценка изменения титруемой и активной кислотности при ферментации молочной среды консорциумами лакто – и бифидобактерий, в том числе с внесением фермента, в диапазоне 30-38°С. Установлено, что снижение температуры ферментации с 38 до 30 °С приводит к снижению активности пробиотических микроорганизмов, увеличению продолжительности процесса ферментации на 4-5 час и снижению концентрации КОЕ до  $10^5$  в готовом продукте. В присутствии

ферментного препарата процесс ферментации интенсифицировался, наблюдался синергетический эффект – время достижения концентрации  $10^{8-9}$  КОЕ/мл составляло 6-8 часов при оптимальной температуре ( $38^{\circ}\text{C}$ ) (концентрация фермента в системе 20 ед/г).

Установлено, что гидролиз лактозы при ферментации молочной среды пробиотическими микроорганизмами протекает при всех выбранных температурных режимах с достижением степени ее утилизации 20-30 %.

Гидролиз лактозы при ферментации молочной среды пробиотическими микроорганизмами в присутствии фермента Biolactase L20 в диапазоне температур  $30-38^{\circ}\text{C}$  показала возможность снижения массовой доли лактозы до 0,95 % при температуре  $34^{\circ}\text{C}$ . Однако данный температурный режим является неоптимальным для культивирования биомасс пробиотических микроорганизмов.

Полученные результаты экспериментальных данных свидетельствуют о необходимости применения двухстадийного процесса ферментирования молочной среды в температурном диапазоне  $34-38^{\circ}\text{C}$ .

Установлено, что проведение лаг-фазы процесса ферментации в присутствии ферментного препарата при  $34^{\circ}\text{C}$  позволило существенно снизить массовую долю лактозы до значений 1,8-2,0 %, при этом количество активных клеток пробиотических микроорганизмов достигало значений  $10^3$  КОЕ/г. Дальнейшее проведение экспоненциальной фазы процесса ферментации осуществлялось с повышением температуры до  $38^{\circ}\text{C}$ , что позволило интенсифицировать процесс синтеза биомассы до значений  $10^8-10^9$  КОЕ/г и завершить процесс гидролиза лактозы до конечных значений 0,95-1,0 %.

Таким образом, конкретизированы режимы применения ферментного препарата Biolactase L20, обеспечивающего снижение массовой доли лактозы до 0,95-1,0 % при условии достижения концентрации пробиотических микроорганизмов консорциума *Str. thermophiles*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis* не менее  $10^7$  КОЕ/г.

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента Российской Федерации (регистрационный номер — МД-5536.2021.5).

### Список использованной литературы

1. A Survey on the survival of *Lactobacillus paracasei* in fermented and non-fermented frozen soy dessert/ S. Norousi et al.// Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.-2019.-Vol. 21.-P. 1-6.
2. Enrichment of probiotic ice cream with different dietary fibers: Structural characteristics and culture viability/ A.S. Akalin et al.// Journal of Dairy Science.-2017.-Vol. 101.-P. 37-46.
3. Sakandar, H.A., Zhang, H. Trends in probiotic(s)-fermented milks and their in vivo functionality: A review/ H.A. Sakandar, H. Zhang//Trends in Food Science and Technology.-2021.-Vol. 110.-P. 55-65.

4. Improving milk intake in milk-averse lactose digesters and maldigesters/ L.E. O'Connor et al.//Journal of Nutrition Education and Behavior.-2015.-Vol. 47.-P. 325-331.

*Сакиева З.Ж., Жолмырзаева Р.Н, Зетбек Г.С.,  
Абиш Ж.А., Айткулова Р.Э.*

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КИСЛОМОЛОЧНЫХ НАПИТКОВ С НАПОЛНИТЕЛЯМИ**

Дефицит отечественного сырья животного происхождения может быть компенсирован использованием различных видов сырья растительного происхождения. Наиболее перспективным направлением пищевой промышленности является комплексное использование ресурсов, включая побочное сырье. Такой подход преследует цели охраны окружающей среды и повышения экономической эффективности производства [1]. С другой стороны, функционально-технологические свойства растительного сырья могут позволить оптимизировать свойства разрабатываемых продуктов, в частности структурно-механические показатели.

Было высказано предположение о возможности использования выжимок ягод, произрастающих в Северо-Западном регионе (клюквы, брусники, черники, черноплодной рябины), в рецептуре кисломолочного соуса. Плодово-ягодное сырье является перспективным сырьевым резервом и может использоваться в виде концентрированных соков, экстрактов, плодово-ягодных выжимок.

Плодово-ягодные выжимки (жмых)- это побочный продукт, получаемый в процессе выработки соковой продукции. Они могут быть высушены, измельчены и использованы в качестве ценной добавки в пищевых продуктах. При правильно подобранной технологии сушки обеспечивается сохранность их вкусо-ароматических свойств, а также сводятся к минимуму потери биологически активных веществ [2].

Цель исследования – создания кисломолочного напитка с растительными наполнителями, который должен не только удовлетворять вкусовыми предпочтением потребителя, но и соответствовать функционально-техническим показателям, необходимым для промышленного производства. Одним из важных показателей качества пищевых продуктов является структурно –механические свойства, которые могут быть изучены различными реологическими методами [3].

Для определения вязкоупругих характеристик напитков использовались методы ротационной реометрии при периодическом изменении во времени скорости сдвига. Причем измерения эффективной вязкости проводили как при увеличении скорости сдвига (прямое измерение) поле выдержки образцов в состоянии такое в течение 15 мин для выявления степеней восстановления структуры. В исследованиях использовали

ротационный вискозиметр RHEOTEST и цилиндр HS с внутренним диаметром 3,5см

Цель исследования-создание кисломолочного соуса с растительным наполнителем, который должен не только удовлетворять вкусовым предпочтениями но и соответствовать функционально-технологическим показателям, необходимым для промышленного производства. Одним из важных показателей качества пищевых продуктов являются структурно-механические свойства, которые могут быть изучены различными реологическими методами [3]

Для определения вязкоупругих характеристик соусов использовались методы ротационной реометрии при периодическом изменении во времени скорости сдвига.

Причем измерения эффективной вязкости проводили как при увеличении скорости сдвига (прямое измерение), так и при ее снижении (обратное измерение) после выдержки образцов в состоянии покоя в течение 15 мин для выявления степени восстановления структуры. В исследованиях использовали ротационный вискозиметр RHEOTEST (Medingen GmbH RN 4.1, New Castle, DE) и цилиндр HS с внутренним диаметром 3,5 см.

Объекты исследования:

- кисломолочный продукт, полученный путем заквашивания охлажденного до температуры сквашивания пастеризованного и предварительно восстановленного сухого обезжиренного молока, нормализованного по сухим веществам образец продемонстрировал самые (16%), чистыми культурами вязкого термофильного стрептококка и ферментации в течение 6 ч при  $42 \pm 2$  °C;
- ягодные выжимки, предоставленные в сухом мелкоизмельченном виде
- образцы кисломолочных соусов, полученных посредством смешивания кисломолочного сгустка и наполнителей в количествах 95 и 5 %, установлены, в исследованиях А.В.Корягиной [4]. Контролем служил образец без наполнителя. Все образцы были изготовлены из расчета одинаковой доли сухих веществ на 100 г продукта.

Реологические исследования проводились в трехкратном измерении с учетом допустимой погрешности 0,05.

Использование выжимок ягод Северо-Западного региона в составе рецептуры соусов влияет на изменение структурно-механических свойств продуктов (рис) Диапазон измерения эффективной вязкости выбран на скоростях сдвига от 0,1 до  $10 \text{ c}^{-1}$ [5].

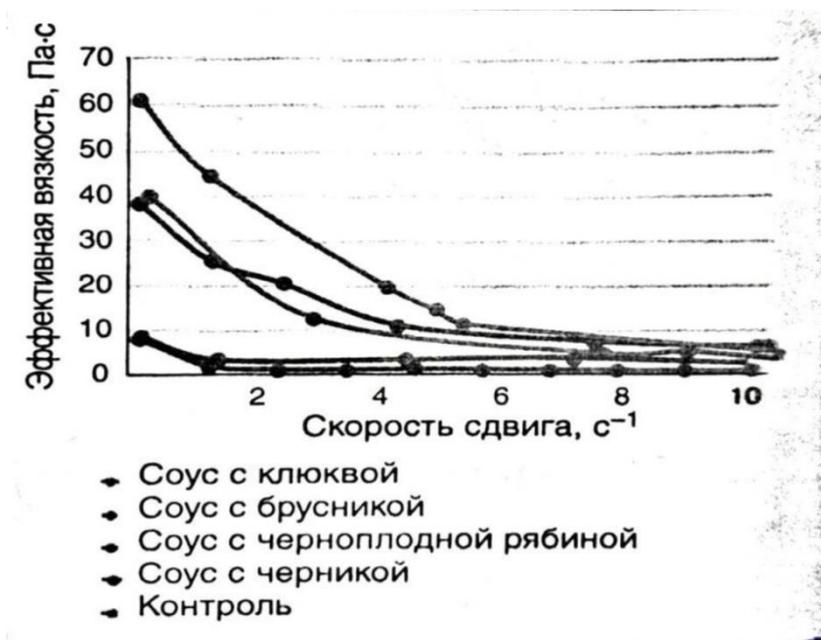


Рис. Зависимости эффективной вязкости образцов от скорости сдвига (0,1-10 с<sup>-1</sup>)

Полученные зависимости эффективной вязкости от скорости сдвига подтверждают существующие сведения о подобных материалах, а именно о том, что они легко разрушаются при небольших нагрузках [6]. Однако контрольный продемонстрировал самые низкие значения эффективной вязкости при скорости сдвига менее 5 с<sup>-1</sup>. В образце продукта с черникой выявлены самые низкие значения данного показателя среди образцов с наполнителем, и он наиболее приближен к контролю. Наиболее высокие значения эффективной вязкости при малых нагрузках продемонстрировал образец с клюквой; несколько уступали ему образцы с брусникой и черноплодной рябиной, в них зависимости эффективной вязкости от скорости сдвига были сравнительно одинаковые.

Качество продукта с внесением наполнителя определяется степенью восстанавливаемости структуры после механического воздействия в процессе перемешивания ингредиентов, т.е. зависит от его тиксотропных свойств [7, 8]. Под тиксотропией можно понимать снижение значения вязкости при различных скоростях сдвига, сопровождаемое запаздывающим восстановлением вязкости при уменьшении скорости сдвига [3]. Для оценки тиксотропных свойств образцы соусов с наполнителями оставляли в состоянии покоя в течение 15 мин, после чего измеряли эффективную вязкость в направлении (от 10 до 0,1 с<sup>-1</sup>).

Результаты исследований, на основании которых можно судить о тиксотропных свойствах образцов соусов с наполнителями, показали, что наименьшую площадь петли гистерезиса продемонстрировали соусы с черноплодной рябиной и черникой (рис. 2). В соусе с черникой был самый низкий диапазон значений эффективной вязкости в процессе эксперимента. Несколько уступали по тиксотропным свойствам соусу черноплодной

рябиной образцы с брусникой и клюквой, однако в соусе с клюквой выявлен наиболее высокий диапазон значений эффективной вязкости среди всех образцов.

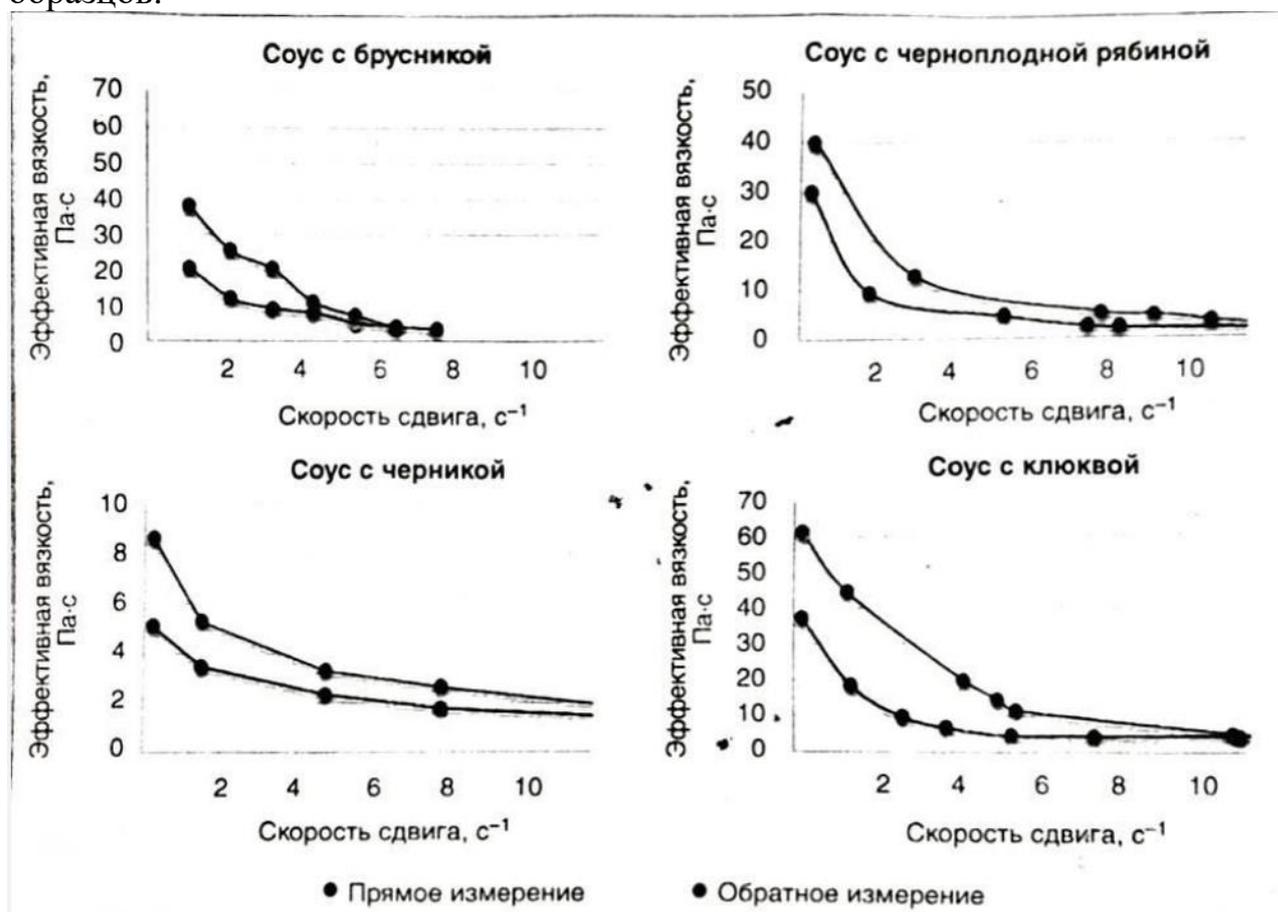


Рис 2 Тиксотропные свойства образцов соусов с наполнителями

Для более комплексного представления о реологических характеристиках соусов с выжимками ягод были получены значения предела текучести образцов согласно расчетному уравнению Бингама:

$$\sigma = \sigma_y + \eta_p \dot{\gamma}$$

В широкой области напряжений пищевые продукты демонстрируют различную текучесть [3]. Данные таблицы позволяют судить о способности к текучести образцов, причем в большей степени способность отмечена у соуса с выжимками черники при наиболее низких напряжениях сдвига (11,7 Па). Соусы с выжимками клюквы, брусники и черноплодной рябиной имели близкие значения изучаемого параметра с учетом предела погрешности.

На основании проведенных исследований реологических свойств соусов с наполнителями можно констатировать, что образец с клюквой показал наиболее высокие значения эффективной вязкости (при малых нагрузках) среди других образцов, несколько уступали ему образцы с черноплодной рябиной и брусникой. Однако соус с черноплодной рябиной продемонстрировал наилучшие тиксотропные свойства.

Предел текучести согласно расчетному уравнению Бингама, Па ( $\sigma_y$ )			
Соус с черникой	Соус с клюквой	Соус с русникой	Соус с черноплодной рябиной
11,7	25,6	25,9	26,1

По результатам изучения реологических свойств соусов с наполнителями можно констатировать, что образец с клюквой показал наиболее высокие значения эффективной вязкости (при малых нагрузках), несколько уступали ему образцы с черноплодной рябины и брусники. Однако соус с черноплодной рябиной продемонстрировал наилучшие тиксотропные свойства. Соусы с выжимками клюквы, брусники и черноплодной рябины имели наиболее высокие значения предела текучести. Соус с черникой выявил более высокую способность к текучести, однако существенно уступал другим образцам с наполнителями по значениям эффективной вязкости и демонстрировал значения, приближенные к значениям контрольного образца. Таким образом, по комплексному показателю реологических свойств выделяется наполнитель из выжимок черноплодной рябины, обеспечивающий наилучшие структурно-механические свойства кисломолочного соуса.

#### Список использованной литературы

1. Pinga L., Brosseb N., Chruscielb L., Navarreteb P., Pizzi A. Extraction of condensed . tannins from grape pomace for use as wood adhesives/Industrial Crops and Products, 2011.- 33, p. 253-257.
2. Величко Н.А. Выжимки голубики обыкновенной как ингредиент мучных кондитерских изделий / Величко Н.А., З.Н. Берикашвили // Вестник КрасГАУ, 2015. – No 4. – С. 59-62.
3. Малкин А.Я. Реология: концепция, методы, приложения / пер. с англ. – // А.Я. Малкин, А.И. Исаев. – СПб.: Профессия, 2007. – 560 с.
4. Nadtochii L., Koryagina A. Fermented sauces for child nutrition from age three/Agronomy Research. – Tartu: Estonia by Vali Press, 2014. Vol. 12. Ne 3. Food science and technology. P.759-768.
5. Gabriele D., de Cindio B., D'Antona P. / A weak gel model for foods / Rheol. Acta, 2001. – 40, p. 120-127.
6. Арет В.А. Реология и физико-механические свойства материалов пищевой промышленности: учеб. пособие / В.А. Арет, С.Д. Руднев. – СПб.: Иц Интермедия, 2014. –252 с.
7. Арет В.А. Физико-механические свойства сырья и готовой продукции / В.А. Арет, Б. Л. Николаев, Л.К. Николаев. – СПб.: ГИОРД. 2009. 448 с.
8. Арет В.А. Инженерная реология жиросодержащих продуктов / В.А. Арет, Г.П. Забровский, Б. Л. Николаев, Л.К. Николаев. – СПб.: СПбГУНИИПТ, 2002. –294 с.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ $\text{Ca}^{2+}$ и $\text{Mg}^{2+}$ НА ВЛАГОУДЕРЖИВАЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ МЯСНОГО СЫРЬЯ**

Естественным компонентом мяса является вода, она образует устойчивые структурные соединения с другими частями мясной системы, которые оказывают влияние на влагоудерживающую способность. Вода имеет прямое воздействие на свойство мяса и её водоудерживающую способность, в результате тепловой обработки можно отследить изменения связанные с потерей массы, которые влияют на качество готового продукта. Водоудерживающая способность мяса — это система в которой связанная вода и воде добавленная из вне удерживается белками, а также другими структурными силами мяса при воздействии внешних сил. На водоудерживающую способность мясных изделий влияют температура, рН среды, способы тепловой обработки, скорость и интенсивность нагрева, реологические характеристики системы, химический состав мяса, количество введенной поваренной соли, возраст и мышечные волокна животного.

Цель исследования – проанализировать влияние солей  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  на влагоудерживающую способность мясного фарша из свинины, применяемого для приготовления колбасных изделий.

Задачи исследования: представить химический состав питьевой воды г. Орла по четырем районам; исследовать влияние качества воды на влагосвязывающую (ВСС), влагоудерживающую (ВУС), влаговыделяющую (ВВС) способности мясного фарша из свинины, применяемого для приготовления колбасных изделий.

Совокупность функционально-технологических свойств мясного сырья оказывает влияние на эмульгирующую, водосвязывающую, жиропоглощающую и гелеобразующую способности, структурно-механические свойства, сенсорные характеристики, величину выхода и потерь при термообработке различных видов сырья и мясных систем и колбасных изделий [1].

В формировании функционально-технологических свойств мясных систем важную роль играет жесткость воды. Основой является характеристика солевого состава воды, так как ионы  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  участвуют в процессах гелеобразования, созревания мяса. Вода, применяемая в технологии приготовления мясных изделий даже в пределах одного региона, города и района часто различается по своему химическому составу. Вследствие чего полуфабрикаты и готовые мясные изделия, изготовленные по одной и той же рецептуре, но с различной по химическому составу водой могут различаться по своим качественным характеристикам.

Результаты, полученные лабораторией контроля качества воды МПП ВКХ «Орелводоканал» были проанализированы по четырем районам г. Орла. Представлены средние статистические результаты анализа проб воды за

третий квартал 2020 года (пробы отобраны из резервуара чистой воды) по четырем районам города. Объектом исследования служили пробы вод, используемые на технологические цели в том числе и в технологическом процессе приготовления колбасных изделий приготавливаемых на комбинате ЗАО «Орловская Нива» в г. Орле [2]. Анализ химического состава воды представлен в таблице 1.

Таблица

Химический состав воды, используемой на технологические нужды в г. Орле по четырем районам за 3 квартал 2020 года

Наименование показателя	Единицы измерения	Средние данные результатов исследования				ПДК согласно СанПиН 2.1.4.107 4-01
		Советский район	Железнодорожный район	Заводской район	Северный район	
Мутность	Мг/дм <sup>3</sup>	<0,58	<0,58	<0,58	<0,58	1,5(2,0)* *
Цветность	Град.цв.	5,63 ± 1,69	8,06 ± 2,42	6,67 ± 1,33	6,32 ± 1,90	20
Запах	Баллы, при 20 С	0	0	0	0	2
Привкус	Баллы, при 20 С	0	0	0	0	2
Водородный показатель	ед.рН	7,19 ± 0,2	7,21 ± 1,44	7,20 ± 0,20	7,29 ± 0,20	6,0-9,0
Жесткость общая	Мг-экв/л	7,31 ± 1,10	7,74 ± 1,16	7,34±1,10	8,54 ± 1,28	7,0 (10,0)
Кальций	Мг/дм <sup>3</sup>	98,17 ± 9,82	96,01±9,60	88,77±8,88	101,68±10,17	280,0
Магний	Мг/дм <sup>3</sup>	26,09 ± 2,61	31,51±3,15	30,92 ± 3,09	44,22 ± 4,42	170,0

*\*\*Предельно-допустимая концентрация (ПДК) в соответствии с Постановлением №21 Врио Главного государственного санитарного врача по Орловской области от 10.07.2017 г*

Как видно из представленных данных химический состав воды по основным показателям, исследуемым на МПП ВКХ «Орелводоканал» г. Орла значительно различается в зависимости от района города. Общая жесткость воды, содержание ионов Ca<sup>++</sup> и Mg<sup>++</sup> в воде по данным, представленным лабораторией МПП ВКХ «Орелводоканал» г. Орла, в Железнодорожном и Северном районах значительно выше, чем в Советском и Заводском районах. Это может существенно повлиять на качество мясного фарша, а также на вкус и сочность готовых мясных продуктов.

Было проведено исследование трех видов фаршей из свинины: фарш домашний производств «Орловская Нива», «Знаменский СГЦ» и «Орловский гостинец». Все продукты категории Б.

Исследовалось влияние воды на влагосвязывающую (ВСС), влагоудерживающую (ВУС), влаговыделяющую (ВВС) способности готовых фаршей. Во все исследуемые образцы свиного фарша добавляли воду, отобранную в четырех районах г. Орла в количестве 15% к массе мясного сырья. Далее выдерживали в течение 10 минут. Влагосвязывающую способность определяли методом прессования, основанном на выделении воды испытуемым образцом при легком его прессовании, сорбции выделяющейся влаги фильтровальной бумагой и определении количества отделившейся влаги по площади пятна, оставляемого ею на фильтровальной бумаге [3]. Адсорбционная влага — это часть воды, которая находится в мясе в наиболее прочно связанном состоянии [1]. Массовую долю связанной влаги вычисляли по формуле (это отношение разности массы бюксы с навеской до высушивания и после к массе навески изделия) [3]. Полученные данные представлены в таблице 2.

Исследования влагосвязывающей способности мясных систем трех исследуемых образцов фаршей методом прессования с пробами воды различных районов г. Орла свидетельствуют о том, что ВСС модельной системы с мягкой водой Советского района в среднем составляет 59,7 %, Заводского района - 59,9 %. Использование образцов более жесткой воды Железнодорожного района показало, что ВВС в среднем составляет 61,5 %, Северного района - 61,9%. Таким образом, использование более мягкой воды даёт результат ВСС на 2,2 % меньше в сравнении с жесткой водой.

Функционально-технологические свойства фаршей из свинины различных мясных компаний, реализуемые в магазинах города, с использованием воды различной жесткости, отбираемые в четырех районах г. Орла представлены в таблице.

Таблица

Функционально-технологические свойства фаршей из свинины с использованием воды различной жесткости в четырех районах г. Орла

Название района		Функционально-технологические свойства	Наименование изделий		
			Фарш свиной «Орловская Нива» домашний, категории Б	Фарш свиной «Знаменский СГЦ» домашний, категории Б	Фарш свиной «Орловский гостинец» домашний, категории Б
Районы г. Орла	Советский район	ВСС,%	58,2	59,4	61,4
		ВВС,%	2,7	2,9	3,1
		ВУС,%	62,3	61,5	60,0
	Железнодорожный район	ВСС,%	59,8	61,1	63,6
		ВВС,%	2,7	3,0	3,0
		ВУС,%	58,9	60,2	62,0
	Заводской район	ВСС,%	58,8	60,0	61,0

		ВВС,%	2,8	3,1	3,1
		ВУС,%	61,8	61,0	61,5
	Северный район	ВСС,%	60,0	61,3	64,3
		ВВС,%	2,9	3,1	3,1
		ВУС,%	60,0	61,3	63,3
Площадь пятна, образованного адсорбированной влагой, см <sup>2</sup>		1,45	1,77	1,95	

ВУС модельных фаршей была также ощутимо выше при использовании мягкой воды как для свиного фарша «Орловская Нива», так и для свиного фарша фирмы «Орловский гостинец». Высокое содержание ионов кальция в жесткой воде способствует экранизации гидрофильных групп белков, которые уменьшают степень их гидратации в результате чего снижается степень связывания и удерживания воды в структуре мясной системы [4,5].

Термическую обработку свиных фаршей производили по температурным режимам, установленным для вареных колбасных изделий нормативно-технической документацией. Потери при термической обработке определяли, как разность массы фарша до и после термообработки.

Таблица

Потери массы при термической обработке

Наименование изделий	Потери массы, %	
	Мягкая вода (Советский и Заводской р-н)	Жесткая вода (Железнодорожный и Северный р-н)
Фарш свиной «Орловская Нива» домашний, категории Б	5,0	11,0
Фарш свиной «Знаменский СГЦ» домашний, категории Б	5,2	11,3
Фарш свиной «Орловский гостинец» домашний, категории Б	5,4	11,7

Из полученных данных следует, что потери массы при термообработки свиного фарша с мягкой водой было в два раза меньше чем с жесткой, в следствии связывания гидрофильных белков и высокой влагоудерживающей способности мясной системы в целом при использовании жёсткой воды.

Органолептические показатели определяли по трем основным показателям: вкус, консистенция и сочность термически обработанного

свиного фарша. Была составлена таблица и указаны баллы по разработанной пятибалльной шкале оценивания.

Органолептические показатели свиного фарша категории Б, в которые добавляли мягкую воду, отличались после термической обработки более нежной консистенцией и большей сочностью по сравнению с другими исследуемыми образцами.

Таким образом, наличие  $\text{Ca}^{2+}$ - ионов в мясной системе оказывает влияние на влагосвязывающую способность мясной системы, а, следовательно, и на структурно-механические показатели и выход готовых изделий. Повышенное содержание этих ионов в воде, используемой на технологические цели, может оказывать отрицательное влияние на функционально-технологические характеристики готовых изделий – консистенцию, монолитность, сочность, цвет, выход. Следовательно, при приготовлении мясной продукции наиболее целесообразно использование мягкой воды, с низким содержанием солей кальция и магния, которая позволит сохранить сочность готового изделия, его структуру и консистенцию.

#### **Список использованной литературы**

1. Антипова Л.В. Прикладная биотехнология / Л.В.Антипова. – С-Пб. ГИОРД, 2003 г.
2. Справочник по производству фаршированных и вареных колбас, сосисок, сарделек и мясных хлебов /А.Г. Забашта, И.А. Подвойская, М.В.Молочников – М., 2001 г.
3. Антипова Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов. / Л.В.Антипова. – М.; «Колос С», 2004 г.
4. Пермяков Е.А. Кальцийсвязывающие белки / Е.А. Пермяков. – М.; Наука. – 1993 г.
5. Гусев Н.Б. Внутриклеточные Са-связывающие белки. Ч.1. Классификация и структура / Н.Б. Гусев // Сорский образовательный журнал, 1998. – №5.

*Центроев З.М.*

#### **ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ РАЗНЫХ ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОН**

Географическая среда вызывает к жизни разнообразные ассоциации микроорганизмов, формирует специфические сообщества, сопряженные трофическими связями, процессами превращения и миграции веществ. Транспорт веществ, в свою очередь, обусловлен внешней энергией, источником которой для поверхности Земли служит поглощаемая радиация Солнца. При этом существует определенная закономерность распространения физиологических групп микроорганизмов по местообитанию, а физические условия среды во многом определяют их функциональные особенности [1]. Известно, что состояние здоровья человека

и продолжительность его жизни во многом зависят от характера экологической среды и качества питания. Анализ заболеваемости населения выявляет высокий уровень патологий, связанных с дисбактериозом. Нормальная кишечная микрофлора принимает участие в водно-солевом обмене, способствует правильному функционированию пищеварительной, сердечно-сосудистой, иммунной и других систем нашего организма. Один из основных компонентов микрофлоры кишечника человека – молочнокислые бактерии (лактобактерии), положительное влияние которых на организм многогранно [2]. Однако напряженность экологических условий, прием антибиотиков и других антимикробных препаратов, широкое использование консервантов при производстве продуктов питания приводят к их угнетению. Поэтому одно из направлений решения проблемы антибиотикотерапии – поиск устойчивых природных штаммов лактобактерий.

#### Материалы и методы

Антибиотическую активность лактобактерий определяли по их отношению к антибиотикам диско-диффузным методом основанный на способности антибиотика диффундировать в питательную среду из пропитанных им стандартных дисков, угнетая рост микроорганизмов. Штаммы лактобактерий, выделенные из кисломолочных продуктов и заквасок двух географических зон (Республика Дагестан и Чеченская Республика).

Изучали чувствительность выделенных штаммов к 7 антибиотикам, азлоциллин, амикацин, бензилпенициллин, гентамицин, линкомицин, тетрациклин, цефазолин.

Таблица

Резистентность молочнокислых бактерий, выделенных в разных географических зонах, к антибиотикам (фиксированная концентрация)

Наименование антибиотика	Содержание активного вещества в диске, мкг. Фиксированная концентрация	Республика Дагестан	Чеченская республика
Азлоциллин	30	26,7 ± 0,33	26±0,41
Амикацин	30	23,3±0,33	23,7±0,39
Бензилпенициллин	10	9,7±0,33	9,3±0,39
Гентамицин	10	27,3±0,3	27,3±0,34
Линкомицин	2	25,7±0,3	25,7±0,3
Тетрациклин	100	24±0	23,3±0,14
Цефазолин	30	13,3±0,7	13,7±0,71

#### Результаты и обсуждение.

Результаты, полученные при исследовании антибиотикорезистентности молочнокислых бактерий, сопоставляли с данными Исмаилова А.А., в

соответствии с которыми при зоне подавления роста диаметром до 10 мм штамм расценивался как устойчивый, 11–15 мм – как малоустойчивый, 15–20 мм – как чувствительный. Итоговая оценка показала разную чувствительность к спектру используемых антибиотиков, которая изменяется в зависимости от географической зоны [3].

Выводы. Штаммы лактобактерий, выделенные из молочных продуктов разных экосистем, по-разному противостоят антибиотикам, способным вызывать нарушения жизненно важных реакций клетки. Антибиотиков проявляют неодинаковую активность в подавлении роста молочнокислых бактерий разных эколого-географических зон. Чувствительность штаммов лактобактерий к антибиотикам соответствует условиям обитания микроорганизмов, имеет природное происхождение и, по-видимому, может служить не только фенотипическим, но и обязательным признаком. Представленные результаты можно рассматривать не только как пример реакции биологической системы на специфическое воздействие лекарственных препаратов определенной химической структуры. Установленная географическая зависимость распространения конкретных резистентных лактобактерий и дрожжей позволит глубже анализировать концептуальные связи в сложных природных системах.

#### **Список использованной литературы**

1. Anzor A. Ismailov, Lyudmila D. Timchenko, Nadezhda I. Bondareva, Svetlana S. Avanesyan, Aminat Z. Amliyeva. Effect of Ozone on Antagonistic Activity of Lactobacilli // Journal of Global Pharma Technology. – 2020. – P. 761-767.
2. Исмаилов А.А. Влияние озона на культуральные, морфологические и тинкториальные свойства лактобактерий / Исмаилов А.А. и др. // Естественные и технические науки, 2019. – №6. – С. 53-56.
3. Исмаилов А.А. Влияние озона на антибиотикорезистентность лактобактерий / Исмаилов А.А. и др. // Естественные и технические науки, 2019. – №2 (128). – С. 38-43.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Абиш Ж.А. – магистр технических наук, ассистент Казахский национальный аграрный университет, Республика Казахстан, г. Алма-Ата

Авдуев И.С. – студент, ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет», Россия, Чеченская Республика, г. Грозный

Адамцевич Н.Ю. – аспирант, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Айткулова Р.Э. – Казахский национальный аграрный университет, Республика Казахстан, г. Алма-Ата

Акосах Й.А. – аспирант, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Альшевская Л.В. – студентка, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Амбарцумян Е.Р. – аспирант, ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИМБиФ, Республика Армения, г. Ереван

Аринченков А.А. – аспирант Вниоок, филиал ФГБНУ Северо-Кавказский Фнац, микробиолог ФКП «Ставропольская биофабрика», Россия, г. Ставрополь

Арутюнян А.А. – ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИБМиФ, Республика Армения, г.Ереван

Асембаева Э.К. – магистр технических наук, старший преподаватель, кафедра Пищевая биотехнология, Алматинский Технологический Университет, Республика Казахстан, г. Алматы

Астамирова Т.С. – студентка бакалавриата направления подготовки 19.03.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Батура Т.Р. – студентка УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Беда И.О. – м.н.с. отраслевой лаборатории «ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве», УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Белокопытова В.А. – студентка АНО СПО «Северо-Кавказский медицинский колледж», Россия, г. Ставрополь

Белокурова Е.В. – к.т.н., доцент, ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия, г. Воронеж

Богданова А.А. –

Болтовский В.С. – д. техн. н, доцент, профессор кафедры химической переработки древесины, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Бубырь И.В. – к.т.н., доцент кафедры ПриПП инженерного факультета, УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Булекова Л.В. – магистрант направления подготовки 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Васильева Ю.А. – магистрант, ИФМиБ, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Ветохин С.С. – к.физ.-мат.н., доцент, заведующий кафедрой физико-химических методов сертификации продукции УО «Белорусский государственный технологический университет», Республика Беларусь, г. Минск

Вечер О.В. – студент, ФГАОУ ВО Северо-Кавказский федеральный университет, Институт живых систем, Россия, г. Ставрополь

Власенко Б.Н. – студент кафедры сервиса и ресторанного бизнес, факультет экономики и управления, ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия, г. Воронеж

Власова Е.А. – к.х.н., доцент кафедры Технологии пищевых продуктов и биотехнологии ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет», Россия, г. Иваново

Водчиц Н.В. – заведующий отраслевой лабораторией «ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве», УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Волкова А.В. – магистрант, ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет», Россия, г. Иваново

Волынчук Н.Н. – магистрант, УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Гильмутдинова А.И. – студентка 3 курса, направление биология, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Гиносян С.В. – аспирант, ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИБМиФ, Республика Армения, г. Ереван

Глинская Н.А. – к. с-х наук, доцент, УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Гнусина Н. В. – магистрант направления подготовки 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Гойдь Е.Л. – магистрант направления подготовки 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Голоенко И.М. – к.б.н., доцент, Институт генетики и Цитологии НАН Беларуси, ведущий научный сотрудник, Республика Беларусь, г. Минск

Горгун О.В. – аспирант кафедры психиатрии и медицинской психологии Белорусского государственного медицинского университета, Республика Беларусь, г. Минск

Грабский О.В.

Грачева А.А., – студентка, ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет», Россия, г. Иваново

Гритчина Т.Е. – студентка, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Гусева Е.С. – магистрант направления подготовки 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Гуцалова А.А. – студентка факультета химико-биологического кластера, направление подготовки «молекулярная биология и биотехнология» ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Россия, г. Санкт-Петербург

Данилова Ю.В. – к.б.н., НИЛ «Микробные биотехнологии», ИФМиБ, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Дитченко Т.И. – к.б.н., доцент, доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Дямуршаева Г.Е. – заведующая тепличным хозяйством НАО КУ им.Коркыт Ата, Республика Казахстан, г. Кызылорда

Дямуршаева Э.Б. – магистр с.-х. наук, научный сотрудник Гуанитарно-технического института «Акмешит», Республика Казахстан, г. Кызылорда

Евтушенков А.Н. – д.б.н., профессор, заведующий кафедрой молекулярной биологии, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Ефимов В.Я. – студент 3 курса, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственная университет ветеринарной медицины», Россия, г. Санкт-Петербург

Жолмырзаева Р.Н. – магистр технических наук, старший преподаватель Казахский национальный аграрный университет, Республика Казахстан, г. АлмаАт

Жук О.Н. – к.б.н., доцент, УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Заерко В.И. – и.о. зав. кафедрой биотехнологии СтГМУ, доктор ветеринарных наук

Зетбек Г.С. – ассистент Казахский национальный аграрный университет, Республика Казахстан, г. Алма-Ата

Зубков А. В. – к.м.н. ФГБОУ ВО Российский университет дружбы народов, Россия, г. Москва

Игнатовец О.С. – к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Ильючик И.А. – старший преподаватель, каф. биохимии и биоинформатики, фак-т биотехнологический, УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Исмаилов А.А. – ассистент кафедры Микробиологии и биологии медицинского института ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет», Россия, Чеченская Республика, г. Грозный

Иткина Д.Л. – мл. науч. сотр., ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Кадиева Е.С. – студентка бакалавриата направления подготовки 19.03.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Казарян Ш.А. – преподаватель, ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИБМиФ, Республика Армения, г.Ереван

Калинин Е. В. – аспирант, ФГБОУ ВО Российский университет дружбы народов, Россия, г. Москва

Кобец Ю.Е. – студентка, биологический факультет, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Коваль Д.К. – магистрант, ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет», Россия, г. Иваново

Кожгельдиева Л.Д. – студентка бакалавриата направления подготовки 19.03.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Комарова А.А. – студентка бакалавриата направления подготовки 19.03.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Корнейчук П.В. – студент, 5 курс, фак-т биотехнологический, каф. Биотехнологии, УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Корчагина А.А. – студент кафедры биоинженерии и биоинформатики ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», Россия, г. Волгоград

Корягина А.О. – аспирант, ИФМиБ, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Костенникова З.С. – аспирант, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Красков Д.А. – студент 3 курса, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственная университет ветеринарной медицины», Россия, г. Санкт-Петербург

Креджян Э.А. – ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИБМиФ, Республика Армения, г.Ереван

Криницкий Д.Р. – студент, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Крылов П.А. – к.б.н., доцент кафедры биоинженерии и биоинформатики ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», Россия, г. Волгоград

Кудияров Р.И. – к.с-х.наук, доцент Гуанитарно-технического института «Акмешит», Республика Казахстан, г. Кызылорда

Кузнецов М. В. – студент ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Кульгавеня А.Д. – аспирант, магистр биологических наук, УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Ламоткин С.А. – к.хим.н., доцент, кафедра физико-химических методов сертификации продукции, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Лебедева И.Е. – магистрант кафедры биотехнологии, химии и стандартизации, Тверской государственной технической университет, Россия, г. Тверь

Левченко В.М. – к.б.н., технолог ФКП «Ставропольская биофабрика», Россия, г. Ставрополь

Лосева А.М. – магистрант направления подготовки 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Лутфуллина Г.Ф. – аспирант, м.н.с. «НИЛ Микробные биотехнологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Лызо Т.С. – студент кафедры биоинженерии и биоинформатики ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», Россия, г. Волгоград

Макарова Е.Л. – к.б.н., доцент ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Россия, г. Воронеж

Марданова А.М. – д.б.н., доцент кафедры микробиологии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Маркарова Е.В. – ассистент кафедры общей и биологической химии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Мартиашвили Д.Р. – студентка бакалавриата направления подготовки 19.03.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Муравьева А.Б – к.б.н., ассистент кафедры общей и биологической химии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Никандров В.Н. – д.б.н., профессор, профессор кафедры биотехнологии УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Николаева А.А. – студентка ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Николаева В.В. – УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Новочадов В.В. – д.м.н., проф. кафедры биоинженерии и биоинформатики ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», Россия, г. Волгоград

Объедков В.Г. – к.м.н., доцент, Белорусский государственный медицинский университет, Кафедра психиатрии и медицинской психологии, заместитель заведующего кафедры психиатрии и медицинской психологии Белорусского государственного медицинского университета по учебной работе, Республика Беларусь, г. Минск

Оганесян А.А. – к.б.н., доцент, зав. кафедрой мед. биохимии и биотехнологии, зав. лабораторией Аналитической биохимии и биотехнологий, ГОУ ВПО Российско-Армянский (Славянский) Университет, ИМБиФ, Республика Армения, г. Ереван

Ожимкова Е.В. – к.х.н., доцент кафедры биотехнологии, химии и стандартизации, Тверской государственной технической университет, Россия, г. Тверь

Орлов В.В. – аспирант, Тверской государственной технической университет, Россия, г. Тверь

Павлюкевич Д.С. – студентка бакалавриата направления подготовки 19.03.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Пажитнев М.П. – магистрант направления подготовки 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Панова Н.В. – к.б.н., старший преподаватель кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Подорожня И.В. – младший научный сотрудник, ОАО «Приборостроительный завод Оптрон», Республика Беларусь, г. Минск

Пожидаева Е.А. – доцент, кафедра технологии продуктов животного происхождения, ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия, г. Воронеж

Понамарев В.С. – ассистент кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственная университет ветеринарной медицины», Россия, г. Санкт-Петербург

Попов Е.С. – д.т.н., доцент, главный научный сотрудник, ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия, г. Воронеж

Приловская Е.И. – УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Разинкова Т.А. – старший преподаватель, кафедра сервиса и ресторанного бизнеса, ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия, г. Воронеж

Ролетнева Л.Ю. – студентка бакалавриата направления подготовки 19.03.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Рудакова Н.Л. – к.б.н., старший научный сотрудник ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Сакиева З.Ж. – Казахский национальный аграрный университет, Республика Казахстан, г. Алма-Ата

Сакович А.В. – студентка 4 курса, специальность: Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Саргсян М.А. – магистр, ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия, г. Воронеж

Сауытбаева Г.З. – к.пед.н., Кафедра биологии, географии и химии НАО Кызылординский университет им.Коркыт Ата, Республика Казахстан, г. Кызылорда

Сейдахметова З.Ж. – д.б.н., профессор кафедры Пищевая биотехнология, Алматинский Технологический Университет, Республика Казахстан, г. Алматы

Сизова Т.И. – к.тех.н., старший преподаватель, ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Россия, г. Орел

Сильченко Е.С. – УО «Полесский государственный университет», Республика Беларусь, г.Пинск

Сокольникова Л.В. – ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Страх Я.Л. – аспирант УО «Белорусский государственный технологический университет», Республика Беларусь, г. Минск

Сулейманова А.Д. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Тирацуйан С.Г. – к.б.н., доцент ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИБМиФ, Республика Армения, г.Ереван

Титок В.В. – д.биол.н., член-корр. НАН Беларуси, директор ГНУ, ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Республика Беларусь, г. Минск

Толкач О.Я. – к. техн. н., доцент, доцент кафедры органической химии, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Толстикова Н.А. – магистрант направления 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Толстикова Е.А. – магистрант направления 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Топчий М.В. – к.б.н, доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Тукан К.А. – студентка, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Тумоян Дж.Г. – студентка, ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИБМиФ, Республика Армения, г.Ереван

Улесов А.С. – студент факультета химико-биологического кластера, направление подготовки «химия прикладных материалов» ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Россия, г. Санкт-Петербург

Фарсиян Л.М. – аспирант, научный сотрудник, ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИБМиФ, Республика Армения, г.Ереван

Фофанова Ю.Ю. – студентка бакалавриата направления подготовки 19.03.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Хасанов Д. И. – студент, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Хрейм Уаель Б.В. – аспирант, ФГБОУ ВО Российский университет дружбы народов, Россия, г. Москва

Центроев З.М. – ассистент, ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет», Россия, Чеченская Республика, г. Грозный

Черкасова Н.С. – студент кафедры сервиса и ресторанного бизнес, факультет экономики и управления, ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия, г. Воронеж

Чурилова Т.М. – к.б.н, доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Шао Чэное – аспирант, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Шарипова М.Р. – профессор кафедры микробиологии, ИФМиБ, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Республика Татарстан, г. Казань

Шачева Е.М. – магистрант направления 19.04.01 Биотехнология ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Россия, г. Ставрополь

Шелудько П.А. – ФКП «Ставропольская биофабрика», Россия, г. Ставрополь

Шимкевич А.М. – к.б.н., старший преподаватель, Белорусский государственный технологический университет, Республика Беларусь, г. Минск

Шолин В.А. – студент кафедры сервиса и ресторанного бизнес, факультет экономики и управления, ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, Россия, г. Воронеж

Шуляк А.Ф. – к.в.н., ведущий научный сотрудник ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН

## СОДЕРЖАНИЕ

РАЗДЕЛ I БИОТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ	
<i>Адамцевич Н.Ю., Болтовский В.С., Титок В.В.</i> Экстракция флавоноидов из цветков бессмертника песчаного ( <i>Helichrysum arenarium l.</i> )	
<i>Амбарцумян Е.Р., Гиносян С.В., Тирацуюн С.Г.</i> Схемы ингибирования активности base-1 и агрегации амилоидогенных пептидов фитопрепаратами	
<i>Аринченков А.А.</i> Культивирование первичных культур клеток	
<i>Астамирова Т.С., Чурилова Т.М.</i> Методы клеточной инженерии применительно к животным клеткам	
<i>Богданова А.А.</i> Выращивание морских микроводорослей <i>Pavlova lutheri</i> на модифицированной питательной среде	
<i>Гиносян С.В., Грабский О.В., Тирацуюн С.Г.</i> Кворум-сенсинга SDIA <i>E. coli</i>	
<i>Гнусина Н. В., Гусева Е.С.</i> Требования к фильтрации стерильных растворов в условиях GMP	
<i>Гойдь Е.Л.</i> Самоинспекция (внутренний аудит) как элемент фармацевтической системы качества	
<i>Кадиева Е.С., Топчий М.В.</i> Биотехнологическое получение низкомолекулярных гепаринов	
<i>Кобец Ю.Е., Дитченко Т.И.</i> Стимуляция продукции фенольных соединений культурой клеток Алтея лекарственного под действием биотических элиситоров	
<i>Кожгагельдиева Л.Д.</i> Характеристика сиропов как лекарственных форм	
<i>Кожгагельдиева Л.Д.</i> Лечебная косметика и ее роль в жизни человека	
<i>Криницкий Д.Р., Толкач О.Я.</i> Краткий мониторинг безопасности фармацевтического рынка Беларуси и России	
<i>Ламоткин С.А., Сакович А.В.</i> Антимикробные свойства и состав эфирных масел сосны обыкновенной и ели европейской произрастающих на экологически чистых территориях	
<i>Левченко В.М., Заерко В.И., Шуляк А.Ф.</i> Сравнительная оценка чувствительности культур клеток к вирусу	

контагиозного пустулезного дерматита овец и коз	
<i>Лосева А.М.</i> Получение экстракционных препаратов на основе <i>Cichorium intybus l</i> и изучение их антибактериальной активности	
<i>Мартиашвили Д.Р., Чурилова Т.М.</i> Методы получения лекарственных препаратов из каллусных и суспензионных культур	
<i>Муравьева А.Б., Маркарова Е.В., Комарова А.А.</i> Гипогликемические свойства экстрактов гимнемы лесной и корня солодки у аллоксан-индуцированных животных	
<i>Павлюкевич Д.С., Топчий М.В.</i> Биосинтез инсулина человека в клетках кишечной палочки	
<i>Ролетнева Л.Ю., Чурилова Т.М.</i> Культуры растительных клеток как биообъекты	
<i>Ролетнева Л.Ю., Чурилова Т.М.</i> Методы культивирования животных клеток	
<i>Страх Я.Л., Альшевская Л.В, Игнатовец О.С.</i> Анализ распределения фенольных соединений в частях морошки приземистой ( <i>Rubus chamaemorus l.</i> )	
<i>Топчий М.В., Белокопытова В.А.</i> Разработка технологии приготовления мягкой лекарственной формы на основе <i>Plantago major</i> и <i>Kalanchoe daigremontiana</i>	
<i>Топчий М.В., Пажитнев М.П.</i> Вайда красильная как источник биологически активных веществ	
<i>Фофанова Ю.Ю., Топчий М.В.</i> Особенности технологии получения водных извлечений из растительного лекарственного сырья	
<i>Шачева Е.М., Панова Н.В.</i> Биофармацевтические аспекты изучения свойств мягких лекарственных форм на основе <i>Nigella sativa L.</i>	
<i>Шелудько П.А.</i> Молекулярно-генетические методы исследования патогенных и сапрофитных штаммов лептоспир	
<p>РАЗДЕЛ II</p> <p>МЕДИЦИНСКИЕ BIOTEХНОЛОГИИ</p>	
<i>Астамирова Т.С., Чурилова Т.М.</i> Применение 3D-печати в медицине	
<i>Крылов П.А., Лызо Т.С., Корчагина А.А., Новочадов В.В.</i> Морфология хондроцитов суставного хряща при экспериментальном остеоартрозе при изменении лубрикативных свойств синовиальной жидкости	

<p>Макарова Е.Л. Использование методов биотехнологии при переработке отходов крупного рогатого скота для создания иммобилизованных препаратов</p>	
<p>Толстикова Е.А., Толстиков Н.А. Изучение частоты развития дисфункции трансплантата печени в зависимости от исходного состояния графта</p>	
<p>Туكان К.А., Голоенко И.М., Объедков В.Г., Горгун О.В., Шимкевич А.М. Изучение роли полиморфного локуса С677Т (RS1801133) гена MTHFR в развитии экстрапирамидных осложнений индуцированных нейрорептиками</p>	
<p>Тумоян Дж.Г, Казарян Ш.А, Оганесян А.А Особенности воздействия стабилизированных экстрактом <i>O. araratum</i> биогенных наночастиц серебра на функциональные характеристики печени белых беспородных крыс <i>Wistar</i></p>	
<p>Фарсиян Л.М., Креджян Э.А., Арутюнян А.А., Оганесян А.А. Зеленый синтез наночастиц оксидов железа с использованием экстрактов <i>Camellia sinensis</i></p>	
<p>Финогенов Т.А., Коломийцев И.Р., Кузьменок Н.М., Леонтьев В.Н. Синтез четвертичной аммонийной соли на основе 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана как потенциального противовирусного средства</p>	
<p>Хасанов Д. И., Рудакова Н.Л. Анализ экспрессии гена металлопротеиназы <i>Bacillus pumilus</i> в составе протеазодефицитных штаммов <i>Bacillus subtilis</i></p>	
<p>Хрейм Уаель Б.В., Калинин Е. В., Зубков А. В. Перспективы использования рекомбинантного тиреоглобулина в диагностике заболеваний щитовидной железы</p>	
<p>РАЗДЕЛ III СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ BIOTEKHOЛOГИЯ</p>	
<p>Батура Т.Р., Водчиц Н.В., Беда И.О. Совершенствование технологии ускоренного размножения винограда и применение регуляторов роста в условиях <i>in vitro</i></p>	
<p>Булекова Л.В. Анализ средств и перспективы совершенствования методов профилактики сальмонеллеза птиц</p>	
<p>Волынчук Н.Н., Жук О.Н. Эндофитные дрожжи винограда культурного</p>	
<p>Гильмутдинова А.И., Васильева Ю.А., Корягина А.О., Данилова Ю.В., Шарипова М.Р.</p>	

Оптимизация методов трансформации штаммов <i>Bacillus pumilus</i>	
Глинская Н.А., Николаева В.В., Сильченко Е.С., Приловская Е.И. Характеристика аллелотипа у коров белорусской черно-пестрой породы по локусам гена бета-казеина и качественные показатели молока	
Гритчина Т.Е., Акосах Й.А., Костенникова З.С. Марданова А.М. Оценка активности внеклеточных ферментов штаммов <i>Fusarium</i> , выделенных из ризосферы картофеля	
Гуцалова А.А., Улесов А.С. Экологическая оценка состояния засоленных почв	
Ефимов В.Я., Понамарев В.С. Клинический случай лечения комплексного заболевания гепатобилиарной системы с использованием препарата Эссенциале® Н	
Ефимов В.Я., Понамарев В.С. Клинический случай лечения патологии родового процесса с использованием препарата окситоцина	
Иткина Д.Л., Сулейманова А.Д., Сокольникова Л.В. Влияние штаммов рода <i>Rantoea</i> на рост и развитие семян пшеницы	
Корнейчук П.В., Кульгавеня А.Д., Ильючик И.А., Никандров В.Н. О способности мицелиальной культуры <i>Pleurotus ostreatus</i> продуцировать ингибиторы протеолиза	
Красков Д.А., Понамарев В.С. Клинический случай лечения мочекаменной болезни с использованием препарата карбоксилазы	
Красков Д.А., Понамарев В.С. Клинический случай лечения сахарного диабета с использованием препарата канинсулин	
Николаева А.А., Лутфуллина Г.Ф., Марданова А.М. Возрастная динамика бактериального разнообразия микробиоты слепого кишечника цыплят-бройлеров	
Орлов В.В., Лебедева И.Е., Ожимкова Е.В. Перспективы использования биоудобрений для компостирования костры и половы льна	
Сауытбаева Г.З., Дямуршаева Г.Е., Кудияров Р.И., Дямуршаева Э.Б. Вспользование <i>Encarsia formosa</i> для биологического контроля <i>Trialeurodes vaporariorum</i> на томатах от в теплицах приаральского региона	
Шао Чэнюе, Евтушенков А.Н. Ферментативная активность пектолитических бактерий выделенных из мягких гнилей растений в республике Беларусь	

РАЗДЕЛ IV  
ПИЩЕВАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

<i>Авдуев И.С., Исмаилов А.А.</i> Исследование термоустойчивости молочнокислых бактерий при сквашивании молока в различных температурных режимах	
<i>Асембаева Э.К., Сейдахметова З.Ж.</i> Влияние процесса ферментации на процесс получения напитка с пребиотическими свойствами	
<i>Белокурова Е.В., Саргсян М.А.</i> Перспективы расширения ассортимента хлебобулочных безглютеновых изделий	
<i>Бубырь И.В.</i> Производства слабосоленой продукции из лососевых видов рыб	
<i>Вечер О.В., Кузнецов М. В.</i> Влияние ультразвука на дисперсный состав козьего молока	
<i>Волкова А.В., Власова Е.А.</i> Оценка качества мороженой рыбы	
<i>Грачева А.А., Власова Е.А.</i> Оценка сорбционной способности кальцийсодержащего каркасного соединения для очистки растительных масел	
<i>Коваль Д.К., Власова Е.А.</i> Влияние ферментов на показатели качества карамельной патоки	
<i>Кульгавеня А.Д., Никандров В.Н.</i> Влияние аденозинтрифосфата и неорганического ортофосфата на казеинолитическую активность гомогенатов мицелия культуры <i>Pleurotus ostreatus</i>	
<i>Павлюкевич Д.С., Панова Н.В.</i> Применение концентрата энокрасителя для окрашивания отделочных полуфабрикатов	
<i>Панова Н.В.</i> Современные биотехнологии для создания новых пищевых продуктов	
<i>Подорожная И.В., Ветохин С.С.</i> Сравнительная оценка кислотностей ряженки, изготовленных из сухой закваски в лабораторных условиях, с требованиями стандарта	
<i>Попов Е.С., Пожидаева Е.А., Шолин В.А., Черкасова Н.С.</i> Исследование пребиотических свойств отечественных растительных биокорректоров	
<i>Попов Е.С., Разинкова Т.А., Шолин В.А., Власенко Б.Н.</i> Исследование процесса получения низколактозных пробиотических пищевых систем	

<p><i>Сакиева З.Ж., Жолмырзаева Р.Н, Зетбек Г.С., Абши Ж.А., Айткулова Р.Э.</i></p> <p>Определение физических свойства кисломолочных напитков с наполнителями</p>	
<p><i>Сизова Т.И.</i></p> <p>Изучение воздействия солей <math>\text{Ca}^{2+}</math> и <math>\text{Mg}^{2+}</math> на влагоудерживающую способность мясного сырья</p>	
<p><i>Центроев З.М.</i></p> <p>Влияние антибиотиков на молочнокислые бактерии разных природно-климатических зон</p>	

