МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ КРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

БІОТЕХНОЛОГІЯ: ДОСВІД, ТРАДИЦІЇ ТА ІННОВАЦІЇ

BIOTECHNOLOGY: EXPERIENCE, TRADITIONS AND INNOVATIONS

МАТЕРІАЛИ І МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ ІНТЕРНЕТ-КОНФЕРЕНЦІЇ

MATERIALS I INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND PRACTICAL INTERNET-CONFERENCE

14-15 грудня 2016 р.

Київ 2016

УДК 57:60

С 89

Редакційна колегія:

проф. Т.П. Пирог, доц. О.І. Скроцька, доц. Ю.М. Пенчук

Біотехнологія: досвід, традиції та інновації : збірник наукових праць. – К.: НУХТ, - 2016. – 645 с.

Збірник містить матеріали І Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Біотехнологія: досвід, традиції та інновації» (14-15 грудня 2016 р.).

Розглянуто теоретичні та практичні аспекти розробки, виробництва, контролю якості та стандартизації продуктів біотехнології на сучасному етапі.

Для широкого кола магістрантів, аспірантів, докторантів, співробітників фармацевтичних та біотехнологічних підприємств, фармацевтичних фірм, викладачів вищих навчальних закладів.

Матеріали публікуються в авторській редакції.

Proceedings of The I International Scientific and Practical Internet-Conference «Biotechnology: experience, traditions and innovations» (December 14-15, 2016) shows advanced theoretical and practical knowledge of development, production, quality control, standardization and distribution of pharmaceutical products. It is useful for Master Degree and PhD students, staff of pharmaceutical and biotechnical plants, pharmaceutical companies, and university lecturers. Materials are published in author's edition.

Рекомендовано вченою радою Національного університету харчових технологій. Протокол №3 від 24 листопад 2016 року.

Recommended for publication by the Academic Council of the National University of Food Technologies. Minutes of meeting № 3 November 24, 2016.

УДК 57:60

© Автори опублікованих статей

© НУХТ, 2016

ЗМІСТ

Золотий ювілей: 50 років інженерної біотехнологічної освіти в Україні …….. 16

СЕКЦІЯ 1. ПРОБЛЕМИ ІНЖЕНЕРНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ОСВІТИ У ВИЩІЙ ШКОЛІ

Карлаш Юрій, Пирог Тетяна

Якість курсового та дипломного проектування – запорука успішної підготовки висококваліфікованих кадрів для біотехнологічної промисловості ……... 31

Омельчук Євген

Практична підготовка майбутніх біотехнологів ……... 38

СЕКЦІЯ 2. ІНДУСТРІАЛЬНА ТА ХАРЧОВА БІОТЕХНОЛОГІЯ

Abojassim Ali Abid, Kadhim Suha Hadi, Hadi Ruqaya Jabir, Hamed Allawi

Public exposure to norms due to intake of food salt in Iraq …….. 43

Аббасбейли Гюлниса, Омарова Элза, Кязымова Ильхама, Мамедалиева Марьям

Оценка качества клеевой резной пастилы, обогащенной органическим йодом …… 53

Аббасбейли Гюлниса, Омарова Элза, Кязымова Ильхама, Насруллаева Гюнаш, Магеррамова Саяра

Разработка технологии и рецептуры сахарного печенья с добавлением порошка топинамбура и солодки ……. 59

Бантя-Загаряну Валентина, Рубцов Сильвия

Исследование микрофлоры хлеба из пшеничной муки с добавлением кукурузной муки …….. 66

Берегова Христина, Пирог Тетяна

Біоконверсія промислових відходів у поверхнево-активні речовини *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 …….. 73

Nakov Gjore, Ivanova Nastia, Damyanova Stanka, Yordanova Leonora, Godjevrgova Tzonka, Necinova Ljupka

Production and analysis of biscuits fortified with einkorn flour…… 80

Бородіна Ольга, Лич Інна

Молозиво – основа для розробки імунного харчування …….. 86

Вороненко Андрій, Пирог Тетяна

Енергетичні та біохімічні аспекти інтенсифікації біосинтезу полісахариду етаполану на суміші вуглеводів і соняшникової олії ….. 92

Данилов И.П., Собакарь А.В., Кибенко Н.Ю., Омельченко А.В.

Влияние минеральных удобрений на образование амилазных ферментов в солоде …….. 99

Зеленко Максим

Біотехнологічні аспекти отримання біоводню ……... 104

Зусько Катерина, Грегірчак Наталія

Вплив добавок на мікробіологічну безпеку м'ясних виробів ……. 110

Івахненко Олена, Калюжная Ольга, Стрельников Леонід

Вивчення деяких властивостей дріжджів для отримання червоних виноматеріалів ……. 117

Корх Наталя, Тетеріна Світлана, Сімахіна Галина

Антимікробна дія рослинної добавки на основі часнику щодо деяких бактерій …….. 122

Курбанова Афиля, Омарова Эльза, Рагимов Намик, Юсифова Мехрибан

Научно-практические и социальные задачи в решении проблемы эколого-микробиологической безопасности продовольственного сырья и продуктов питания ……..... 129

Менчинська Аліна, Лебська Тетяна

Оцінка біологічної цінності рибних паст із застосуванням інфузорії *Tetrahymena pyriformis* ……..... 136

Ostrov Ievgeniia

Microcommentary: development of a method to determine the effectiveness of cleaning agents in removal of biofilm derived spores in milking system …… 141

Пирог Тетяна, Шевчук Тетяна

Фізіологічні основи регуляції синтезу поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* IMB AC-5017 і *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 ……. 148

Покиньброда Тетяна, Карпенко Олена

Синтез біосурфактантів штамами *Pseudomonas* на відходах виробництва біодизелю ……... 155

Покойовець Катерина, Грегірчак Наталія

Зміна властивостей хлібобулочних виробів під впливом пробіотичного покриття ……. 161

Рагимов Намик, Кязымова Ильхама

Усовершенствование технологии производства красных столовых вин на основе использования ферментативного катализа …….. 166

Рагимов Намик, Юсифова Мехрибан

Технология производства десертного вина типа малаги с использованием ферментных препаратов …….. 172

Раду Оксана

Формирование перекисных соединений в масле грецкого ореха (*Juglans regia* L*)* в присутствии октилгаллата и воды …….. 177

Рубцов Сильвия, Бантя-Загаряну Валентина

Влияние производственных факторов на микробиоту хлеба с добавлением кукурузной муки …….. 182

Самотьос Наталія, Скроцька Оксана

Залізозв'язуючий білок лактоферин: біологічна роль, можливості отримання та практичного застосування ……... 189

Українець Олена, Грегірчак Наталія

Мікробіологічний контроль вершкового крему різної рецептури …… 194

Фарзалиев Мазахир, Насруллаева Гюнаш

Системный анализ и технологическая линия производства хлебопекарных дрожжей ……... 200

Швець Володимир, Карпенко О.В., Карпенко І.В., Лубенець В.І., Новіков В.П.

Антимікробна активність композицій на основі похідних тіосульфокислот та біопар щодо фітопатогенів *Agrobacterium tumefaciens* та *Clavibacter michiganensis* …… 206

СЕКЦІЯ 3. ПРИРОДООХОРОННІ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Воронцов Олександр

Біогаз з тваринницьких комплексів …… 212

Герштман Арем, Костейков Назар

Синтез поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 та *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 на відпрацьованій соняшниковій олії для використання у природоохоронних технологіях …… 220

Голуб Наталія, Шинкарчук Мальвіна, Козловець Олександр

Біотехнології отримання біопалива з органічних відходів шкіряного виробництва …….. 227

Ткачук Костянтин, Дядюша Людмила

Аналіз сучасного асортименту полімерної упаковки, здатної до біодеструкції …….. 234

Задира Світлана

Міграція та розподіл свинцю в основних компонентах екосистеми грабової діброви ……... 241

Івахнюк Микола, Вороненко Андрій

Синтез мікробного полісахариду етаполану на олієвмісних промислових відходах ……. 247

Каландирець Тетяна, Красінько Вікторія, Андріяш Ганна, Тігунова Олена, Бейко Наталія

Отримання ліпідів дріжджів *Rhodotorula gracilis* IMB Y-5075 як джерела біопалива ……. 254

Лабовка Іван

Вплив норовірусу на загальну кількість спалахів гостро-кишкової інфекції ……... 260

Ломберг Маргарита, Красінько Вікторія, Мірошниченко Марія, Талько Ольга

Гриби роду *Hericium* як перспективні біологічні агенти природоохоронних біотехнологій …….. 267

Михалевська Тетяна, Береза-Кіндзерська Людмила

Математична модель процесів біологічного очищення стічних вод …. 274

Павлюковець Ірина

Інтенсифікація біосинтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 на відпрацьованій соняшниковій олії …… 282

Пащенко Ірина, Палюх Галина, Червецова Вероніка, Заярнюк Наталія, Швед Ольга, Новіков Володимир

Оптимізація умов культивування нагромаджувальної культури целюлолітичних мікроорганізмів ……. 290

Пирог Татьяна, Антонюк Светлана

Влияние поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 на деструкцию нефтяных загрязнений …….. 299

Pirog Tetyana, Shulyakova Mariya

Biosurfactant synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 on byproduct of biodiesel production ……. 306

Потапенко Олена

Екоморфічний аналіз рослинного покриву територій електричних підстанцій …….. 313

Семенова Олена, Бублієнко Наталія, Шилофост Тетяна, Жилик Алла, Семенова Олександра

Вирішення проблеми очищення стічних вод від нафтопродуктів ……. 319

Семенова Олена, Сулейко Тетяна, Семенова Олександра

Перспективи застосування способу іммобілізації мікроорганізмів активного мулу в процесі очищення стічних вод молокопереробного підприємства ……. 324

Суслова Ольга, Таширев Александр, Мокроусова Елена

Медьрезистентность штамма дрожжей, выделенного из глин карстовой полости Мушкарова яма …… 331

Тугай Андрій, Тугай Тетяна, Пономаренко Ганна

Особливості перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у трьох пострадіаційних генерацій *Cladosporium cladosporiodes* за умов лімітації джерела вуглецю ……..…… 337

Харченко Вячеслав

Перспективи виробництва й використання гідролізного біоетанолу в Україні ……...…… 343

Червецова Вероніка, Дрешер Наталія, Груник Оксана, Яремкевич Олена, Швед Ольга, Новіков Володимир

Додаткові дослідження окремих характеристик дитячих йогуртів ….. 350

Швед Олекса, Березюк Катерина, Стадницька Наталія, Василюк Софія, Швед Ольга, Новіков Володимир

Перспектива фіторемедіації біоінженерних ставків для інтенсифікації очищення побутових стоків ……... 356

СЕКЦІЯ 4. СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКА БІОТЕХНОЛОГІЯ

Воробьева Мария, Воронова Нина, Ковалев Ярослав

Различия в устойчивости к неоникотиноидам сестринских линий тлей *Myzus persicae* (SULZER, 1776) ……..…… 364

Havrylkina Daria, Pirog Tatiana, Leonova Natalia

Synthesis of exometabolites with gibberellic activity by producers of surfactants *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 ……..……... 370

Голимбйовская Алена, Красинько Виктория, Андрияш Анна, Бейко Наталья, Тигунова Елена, Шульга Сергей

Низовой торф как субстрат для культивирования продуцента липидов *Pichia anomala* IMB Y-5067 ……. 377

Єфремова Валерія, Шаповалова Ольга, Стрілець Оксана, Дишко Валентина, Усцький Іван

До питань боротьби з кореневою губкою …… 384

Гайдай Ярослав, Журавльова Марія, Красінько Вікторія

Фітопатогенна епіфітна мікрофлора рослин …….. 389

Лада Ісакова

Введення в культуру *in vitro* деяких цінних лікарських і сільськогосподарських рослин …….. 394

Кононцев Сергій, Саблій Лариса, Гроховська Юлія

Біотехнологія культивування кормових організмів у системі відновлення якості води рибницьких господарств індустріального типу ……. 401

Левтун Ігор, Голуб Наталія, Науменко Ірина

Вплив комбінацій довжин хвилі світлової енергії на культивування *Chlorella vulgaris* …… 408

Лич Інна, Волошина Ірина

Пробіотики на основі бактерій роду *Bacillus* …….. 415

Магдисюк Михайло

Порівняння ефективності введення в культуру та росту *in vitro* деяких видів покритонасінних рослин …… 420

Пилипчук Оксана, Шеремета Віктор

Біотехнологічний спосіб стимуляції відтворювальної здатності свиноматок …… 425

Пирог Тетяна, Леонова Наталія, Шевчук Тетяна, Іутинська Галина

Перспективи використання позаклітинних метаболітів *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 і *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 у сільському господарстві ……. 432

Похилько Світлана, Моргун Богдан, Степаненко Антон, Дуган Олексій

Аналіз білкових фракцій озимої пшениці носіїв гена *GPC-B1* від *Triticum turgidum* ssp. *Dicoccoides* ……... 439

Рудакова Екатерина, Анацкий Андрей

Влияние биопрепарата «биогран» на ростовые характеристики *Cucumis sativus* …….. 446

Тогачинська Ольга, Ничик Оксана, Салавор Оксана, Паращенко Ірина

Вплив препарату «Екостиму» на вміст білку і клейковини в зернових 451

Шеремета Віктор, Грунтковський Микола

Біотехнологічний спосіб стимуляції відтворювальної здатності корів препаратом Стимулін-ВЕТ …… 456

СЕКЦІЯ 5. ФАРМАЦЕВТИЧНА ТА МЕДИЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ

Герасимець Олена, Красінько Вікторія, Кучмеровська Тамара

Прогнозування розвитку гострого панкреатиту шляхом визначення рівня альфа амілази в крові …….. 461

Голубєв Павло, Харченко Євген, Скроцька Оксана

Трансгенні рослини як джерело отримання рекомбінантних інтерферонів …….. 465

Горобец Ольга, Красинько Вікторія, Дубилей Тетяна

Влияние потенциальных геропротекторных фармацевтических препаратов при их совместном использовании на продолжительность жизни мышей …….. 471

Гривняк Соломія, Суховий Максим, Курка Марія, Конечна Роксолана, Новіков Володимир, Василів Ореста

Дослідження нормальної мікрофлори людини …….. 477

Диптан Людмила, Красінько Вікторія

Чинники, що призводять до розвитку цукрового діабету І та ІІ типу .. 484

Заплатніков Ярослав

Порівняння антимікробної активності рослин, культивованих в умовах *in vitro* та *in vivo*, на прикладі ендівію салатного, ендівію листового, бурачника лікарського …….…….. 490

Заяць Анастасія, Антонюк Марія

Мікробна *L*-аспарагіназа у лікуванні гострого лімфобластного лейкозу ……... 497

Калюжная Ольга, Івахненко Олена, Стрельников Леонід, Калюжний Олексій

Перспективність застосування сучасних фільтруючих елементів у виробництві антибіотичної речовини піоціаніну біотехнологічним методом …….. 503

Камишнікова Віра, Івахненко Олена, Стрельников Леонід

Перспективність розробки пробіотичних препаратів для лікування дисбіозів ……. 510

Кульбаєва Юлія, Дубілей Тетяна

Застосування біофлавоноїду кверцетину при лікуванні цукрового діабету та його ускладнень (Огляд літератури) …… 516

Лутчин Ірина

Імунотерапія ракових захворювань ……. 521

Луцай Дар'я, Пирог Тетяна

Руйнування біоплівок за наявності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих на різних вуглецевих субстратах …… 527

Матвєєва Надія, Дробот Катерина

Біостимуляція росту культивованих *in vitro* «бородатих» коренів *Artemisia vulgaris* L. …….. 533

Моцар Валентин, Волошина Ирина

Использования комплексов циклодекстринов в фармацевтической отрасли ……... 539

Никитюк Лілія

Біологічні властивості поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, синтезованих на промислових відходах ……. 545

Огородник Наталія

Ефективність впливу різних форм вітамінів A, D_3, E на активність Т- і В-клітинної ланок імунітету поросят …… 552

Кочерга Руслана, Бездєнєжних Наталя

Клінічна значимість моніторингу епітеліально-мезенхімального переходу пухлинних клітин при онкопатологіях …….. 559

Пасайлюк Марія

Вітамін Р у плодових тілах деяких макроміцетів …….. 566

Рудкевич Ірина, Красінько Вікторія

Отримання пеніцилінази культивуванням бактерій *Bacillus licheniformis* ……... 572

Rudkovska Ievgeniia, MSc, Metsallik Janek, MSc

Laboratory results visualization techniques for athlete's personal decision support …… 578

Свинаренко Дмитрий, Красинько Виктория

Сравнительная характеристика микроорганизмов-продуцентов тимидина – предшественника азидотимидина (AZT) …….. 585

Сидор Інга

Вплив умов культивування на біологічні властивості поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 ……... 592

Старовойтова Светлана

Поиск новых позитивных свойств пробиотических микроорганизмов 599

Сугробов Максим, Шаповалова Ольга, Стрельников Леонід, Півненко Світлана, Шипілова Тетяна

Дослідження мікробіологічної чистоти води відкритих водойм на території міста Харків ……. 606

Толкачова Наталя, Комаровська-Порохнявець Олена, Баранович Діана, Коханюк Богдана, Новіков Володимир

Фіто- та цитотоксичність стероїдних глікозидів цибулин *Allium cyrilii* TEN …… 611

Цвєткович Марія, Голуб Наталія

Культивування *Chlorella vulgaris* в умовах високих концентрацій наноструктурованого цитрату феруму …… 617

Шеремет Марина, Івахненко Олена, Калюжная Ольга, Стрілець Оксана, Стрельников Леонід

Сучасні підходи до застосування бактеріофагів …… 624

СЕКЦІЯ 6. МОЛЕКУЛЯРНА ТА НАНОБІОТЕХНОЛОГІЇ

Дарчик Вікторія, Красінько Вікторія, Дубілей Тетяна

Вплив нової аллотропної форми вуглецю – фулерену C_{60} на тривалість життя мишей …… 630

Мамчур Ольга, Пилипонський Ігор, Марченко Світлана, Солдаткін Олександр, Дзядевич Сергій

Використання силікалітів з метою створення нового біосенсора для визначення креатиніну …….. 636

ЗОЛОТИЙ ЮВІЛЕЙ: 50 РОКІВ ІНЖЕНЕРНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ОСВІТИ В УКРАЇНІ

Півстоліття – це досить тривалий термін для того, щоб озирнутися назад і оцінити пройдений шлях. Від дня першого набору студентів за новітньою спеціальністю «Технологія мікробіологічних та вітамінних виробництв» у Київському технологічному інституті харчової промисловості (так у далеких 60-х роках минулого століття називався Національний університет харчових технологій) почалася історія інженерної біотехнологічної освіти в Україні. Ця, як сьогодні прийнято говорити, інновація у вищій освіті, тобто відкриття у 1966 році на базі кафедри технічної мікробіології випускової кафедри технології мікробіологічних і вітамінних виробництв диктувалася, насамперед, серйозною нестачею інженерних кадрів і фахівців нового біотехнологічного напрямку на промислових підприємствах. Саме тоді на просторах колишнього Радянського Союзу бурхливо розвивалася нова, молода галузь промисловості – мікробіологічна. Відкривалися дійсно дивовижні перспективи: за використання невидимих оку працівників – клітин мікроорганізмів – одержувати десятки, сотні, тисячі тон потрібних людині продуктів: амінокислот, вітамінів, ферментів, антибіотиків, спектр та промислові масштаби отримання яких постійно розширювалися. Отже, вибір вищого навчального закладу для підготовки майбутніх біотехнологів був зумовлений тим, що, по-перше, готувати фахівців для мікробіологічної промисловості повинні були спеціалісти, які мають великий досвід роботи з мікроорганізмами, і на кафедрах, де є необхідна матеріально-технічна база. По-друге, робота з мікроорганізмами в промислових умовах вимагала відповідних інженерних знань. Таке вдале поєднання мікробіології та інженерії стало можливим у Київському технологічному інституті харчової промисловості.

Майже п’ятдесят років тому, в далекому 1971 році з Київського технологічного інституту харчової промисловості вперше в Україні на трудову

ниву ступило 25 інженерів-технологів за спеціальністю «Технологія мікробіологічних і вітамінних виробництв». Це був перший, як тепер прийнято говорити, експериментальний, випуск спеціалістів – біотехнологів.

Кафедра, як і людина, як і держава, має свою історію. І, безумовно, пов'язана з історією людей, які стояли у її витоків. У різні роки кафедру очолювали ентузіасти, висококласні фахівці, закохані у свою справу. У започаткуванні організації підготовки інженерів-біотехнологів нашої країни взяли участь: професор, член-кореспондент АН України Є.І. Квасніков, який пізніше, упродовж багатьох років, очолював відділ фізіології і систематики промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології АН України, започаткувавши багаторічну плідну співпрацю кафедри біотехнології і мікробіології НУХТ з Інститутом; професори В.В. Первозванський, Д.П. Проценко, кандидат хімічних наук С.М. Будницький, доценти Т.А. Борода, К.О. Кірова, професор, академік АН УРСР Р.В. Чаговець.

Євгеній Іванович Квасніков

Окремо із великою шаною та вдячністю хочеться згадати Тамару Платонівну Слюсаренко, яка багато років очолювала кафедру і завдяки організаторському таланту, педагогічній майстерності та особистим якостям якої кафедра сформувалась як випускова. Саме у 1970-80-х роках організовується педагогічний колектив кафедри, формується та постійно укріплюється матеріально-технічно база. Прагнучи йти у ногу з часом, з 1973 року на кафедрі було проведено набір студентів вечірньої форми навчання, які опановували фах біотехнолога без відриву від виробництва. У цей час на кафедрі формуються перші наукові школи, діяльність яких була спрямована на покращення технологічних показників одержання білкових речовин, ферментів, амінокислот, вітамінів, очищення

Тамара Платонівна Слюсаренко

стічних вод, проводилась селекція мікроорганізмів, боротьба зі шкідливою мікрофлорою у харчовій і мікробіологічній промисловості. З тих часів кафедра функціонує не тільки як освітній центр, але і як центр дослідницький.

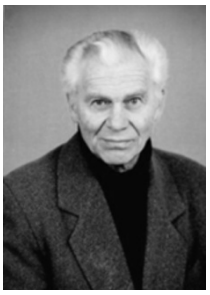
Світлана Володимирівна Єльчиць

У зв'язку із зростаючими потребами промисловості у 1980-ті роки було збільшено набір студентів-біотехнологів з 25 до 50 осіб. У травні 1986 року кафедру очолила доцент С.В. Єльчиць.

У 1986-1988 роках на кафедрі був створений навчально-науково-виробничий комплекс, до складу якого увійшли: Інститут мікробіології і вірусології АН УРСР, Трипільський біохімічний завод, концерн «Укрбіохімпрепарат», Український науково-дослідний інститут спирту і біотехнології продовольчих продуктів (УкрНДІспиртбіопрод). Тоді ж, у 1988 році, кафедра змінила свою назву на «Кафедра біотехнології мікробного синтезу».

У 1990-х роках, складний для країни переломний період руйнування всіх цінностей радянської епохи, у суспільстві панували емоції розчарування й розгубленості. Всупереч невпевненості у перспективах біотехнологічної галузі в Україні кафедра не знижувала рівень підготовки фахівців, намагаючись забезпечити своїм випускникам гарний старт кар'єри у непростих умовах ринкової економіки, що тільки зароджувалась. У 1992-1996 роках кафедру очолював к.т.н., доц. Шевченко А.М. З 1996 до 2001 року завідувачем кафедри був к.б.н., доц. Веренко В.Д. У 1998 році на кафедрі розпочато підготовку фахівців за спеціалізацією «Технологія біохімфармпрепаратів», орієнтованої на потреби фармацевтичної галузі промисловості. Для забезпечення можливості одержання освіти

Анатолій Маркович Шевченко



Валентин Дмитрович Веренко

без відриву від виробництва у тому ж, 1998 році відкрито заочну форму підготовки.

Час збігає невпинно, і за кілька десятиліть на кафедрі й в університеті змінилося декілька поколінь фахівців. Майже повністю змінився склад кафедри. Це, однак, не привело до втрати традицій і наступності.

Особливо стрімко почала розвиватися кафедра біотехнології і мікробіології з 2001 року із приходом її нинішнього керманича, доктора біологічних наук, професора, Лауреата Державної премії у галузі науки і техніки Тетяни Павлівни Пирог. Повернувшись до рідної Alma mater, Тетяна Павлівна привела з собою цілу плеяду науковців, які дали новий потужний поштовх науковій роботі на кафедрі. З її легкої руки на кафедрі сформувалися декілька наукових шкіл, які працюють у найрізноманітніших напрямах фундаментальної та прикладної біотехнології. З'явилися нові цілі, нові концепції розвитку. Були повністю відремонтовані та переоснащені дві мікробіологічні, технологічна та науково-дослідна лабораторії кафедри, що дозволяє нині на високому рівні проводити заняття з фундаментальних та спеціальних дисциплін. Кафедра ніби набула «другого дихання» і нині дійсно по праву може вважати себе флагманом біотехнологічної освіти в Україні.

З 2001 року д.б.н., проф. Т.П. Пирог очолює кафедру

Головне досягнення й предмет гордості – це вихованці кафедри. У кожного з випускників свій шлях. За 50 років кафедра озброїла знаннями й випустила у світ тисячі своїх випускників, які працюють сьогодні в різних куточках нашої країни й за кордоном. Багато з них займають високі керівні посади у різних галузях промислового виробництва, освіти, науки та інших сферах.

Навчальні лабораторії кафедри біотехнології і мікробіології

Семенова Олена Іванівна, була у складі того самого першого випуску інженерів-технологів мікробіологічних і вітамінних виробництв, який відбувся у 1971 р. Кандидатську дисертацію захистила у 1986 р. Нині кандидат технічних наук, доцент Семенова О.І. очолює кафедру біохімії та екологічного контролю рідної Alma mater – Національного університету харчових технологій, є автором понад 180 наукових та методичних публікацій, у тому числі 5 авторських свідоцтв і держпатенту України. Має нагрудний знак «Изобретатель СССР», є співавтором двох підручників: «Біологічна хімія», «Природоохоронні технології та обладнання». Науково-педагогічний напрямку якому працює нині Олена Іванівна – біотехнологія очищення стічних вод харчової промисловості.

Олена Іванівна Семенова

Ногіна Таїсія Михайлівна – старший науковий співробітник відділу фізіології промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, кандидат біологічних наук, закінчила Київський технологічний інститут харчової промисловості (нині НУХТ) у 1971 р. та отримала спеціальність інженер-технолог мікробіологічних і вітамінних виробництв.

Володимир Миколайович Іванов

Іванов Володимир Миколайович. Навчання за спеціальністю «Технологія мікробіологічних і вітамінних виробництв» закінчив з відзнакою у 1972 році. Отримав кваліфікацію інженер-технолог мікробіологічних і вітамінних виробництв. З 1972 року почав працювати інженером, а з 1988 року – завідувачем відділу технології біосинтезу в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Академії наук України. За наукові досягнення у галузі мікробіології був нагороджений у 1993 році Нагородою Президіуму Академії Наук України ім. акад. Заболотного. У 1978 році захистив кандидатську, в 1987 році – докторську дисертацію по мікробіології та біотехнології. Був професором Національного університету ім. Тараса Шевченка, Національного університету «Киево-Могилянська Академія», а також професором закордонних університетів. Є автором більш, ніж 50 наукових статей в українських і більш, ніж 70 статей у міжнародних журналах, 8 патентів, у тому числі 2 патентів США, автором підручника «Мікробіологія довкілля для інженерів» (Environmental Microbiology for Engineers, CRC Press, USA), 7 монографій, редактором трьох книг, зокрема тома 10 «Біотехнологія навколишнього середовища», Довідника з інженерії навколишнього середовища (Environmental Biotechnology, v.10, Handbook of Environmental Engineering, Humana, USA). Був науковим керівником двох кандидатів наук та чотирьох Doctors of Science (PhD) в галузі біотехнології довкілля. Був керівником більш ніж 20 українських і 7

міжнародних наукових проектів, а також організатором та головою українських та міжнародних конференцій.

Анатолій Іванович Салюк

Салюк Анатолій Іванович у 1972 р. закінчив факультет технології бродильних та хлібопекарських виробництв Київського технологічного інституту харчової промисловості за спеціальністю «Технологія мікробіологічних і вітамінних виробництв». Нині Анатолій Іванович – професор кафедри біохімії та екологічного контролю Національного університету харчових технологій, кандидат технічних наук (кандидатську дисертацію захистив у 1985 р.). А.І. Салюк є автором понад 150 наукових та методичних публікацій, у тому числі 10 авторських свідоцтв. Співавтор підручника «Основи екології», навчального посібника з екологічного менеджменту «Модернізація виробництва: системно-екологічний підхід» та навчального посібника «Основи екологічної модернізації підприємств харчової галузі: методологія, практика». Підготував 3 кандидатів наук. Науково-педагогічний напрямок, яким нині опікується Анатолій Іванович – біотрансформація відходів харчової та переробної промисловості.

Стабнікова Олена Всеволодівна закінчила з відзнакою навчання за спеціальністю «Технологія мікробіологічних і вітамінних виробництв» у 1972 році, отримавши кваліфікацію інженер-технолог мікробіологічних і вітамінних виробництв. У 1972 році поступила до аспірантури на кафедру мікробіологічних та вітамінних виробництв, яку закінчила у 1975 році. З того часу працювала на кафедрі мікробіологічних та вітамінних виробництв (нині кафедра біотехнології і мікробіології) спочатку асистентом, потім старшим викладачем, потім доцентом до 2001 року. Кандидатську дисертацію захистила у 1978 році. За наукові досягнення у галузі мікробіології спільно з Івановим Володимиром Миколайовичем була нагороджена у 1993 році Нагородою

Олена Всеволодівна Стабнікова

Президіуму Академії наук України ім. акад. Заболотного, а також два рази – премією фонду «Відродження». Є автором більш ніж 30 наукових статей в українських, і більш ніж 50 статей у міжнародних журналах, 7 патентів, у тому числі 2 патентів США, автором двох монографій та 4 глав у книгах, підготувала 5 кандидатів наук, два із яких (Грегірчак Наталія Миколаївна та Красінько Вікторія Олегівна) продовжують роботу на кафедрі, керувала міжнародним проектом (країни учасниці: Великобританія, Франція, Польща та Україна) «Біотехнологія селенозбагачених продуктів харчування» за програмою «Інко-Копернікус».

Головач Тетяна Миколаївна закінчила Київський технологічний інститут харчової промисловості (нині НУХТ) у 1975 р. та отримала спеціальність інженер-технолог мікробіологічних і вітамінних виробництв. Нині очолює роботу Депозитарію штамів мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, єдиного в Україні закладу, що здійснює гарантоване державне зберігання непатогенних інноваційних мікроорганізмів. Старший науковий співробітник відділу фізіології промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, кандидат біологічних наук.

Мартиненко Олена Іванівна отримала спеціальність інженер-технолог мікробіологічних і вітамінних виробництв у 1978 р. Нині Олена Іванівна є старшим науковим співробітником відділу молекулярної і квантової біофізики Інституту молекулярної біології та генетики НАН України, кандидат біологічних наук. Є автором лабораторного практикуму «Методи молекулярної біотехнології».

Перемот Зоя Павлівна закінчила Київський технологічний інститут харчової промисловості (нині НУХТ) у 1978 р. та отримала спеціальність інженер-технолог мікробіологічних і вітамінних виробництв. Зоя Павлівна багато років успішно працює у фармацевтичній галузі промисловості. Нині

вона є заступником директора з регуляторних відносин, ліцензування і реєстрації ВАТ «Фармекс Груп».

Тетяна Павлівна Пирог

Пирог Тетяна Павлівна отримала спеціальність інженер-технолог мікробіологічних та вітамінних виробництв, закінчивши з відзнакою Київський технологічний інститут харчової промисловості у 1980 р. З 1983 р. працювала в Інституті мікробіології і вірусології Національної академії наук України – інженером, науковим, старшим науковим та провідним науковим співробітником. У 1989 р. захистила дисертацію на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (спеціальність 03.00.07 – мікробіологія), у 1999 р. – дисертацію на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук (спеціальність 03.00.20 – біотехнологія).

Нині Тетяна Павлівна очолює рідну випускову кафедру біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій, є доктором біологічних наук, професором, лауреатом Державної премії України в галузі науки і техніки, головою комісії з біотехнології науково-методичної ради Міністерства освіти і науки України, головою спеціалізованої вченої ради Д 26.058.04 НУХТ із захисту докторських дисертацій за спеціальностями 03.00.20 - біотехнологія», 05.18.04 – технологія м'ясних, молочних продуктів і продуктів з гідробіонтів, членом спеціалізованої вченої ради Д 26.233.01 при Інституті мікробіології і вірусології НАН України із захисту докторських дисертацій за спеціальностями 03.00.20 «Біотехнологія», 03.00.07 – «Мікробіологія», 03.00.06 – «Вірусологія», членом редколегії журналів «Харчова промисловість», «Ukrainian Journal of Food Science», «Мікробіологічний журнал». Т.П. Пирог є автором понад 500 публікацій, у тому числі 4 монографій, 5 підручників і 2 навчальних посібників (з Грифом МОН і МОНС), 10 авторських свідоцтв, 2 міжнародних патентів, 36 патентів України на винахід і 50 – на корисну модель,

300 статей, з яких 150 опубліковано у журналах науко-метричної бази даних SCOPUS. Індекс Гірша: 7 (база SCOPUS), підготувала 1 доктора і 8 кандидатів наук.

Наукові та освітянські досягнення Тетяни Павліни оцінені на найвищому державному рівні. Вона Нагороджена Грамотою Кабінету Міністрів України, Почесною грамотою ВАК України, почесними грамотами Міністерства освіти і науки України, Нагрудним знаком Міністерства освіти і науки України «За наукові досягнення».

Яцюк Олександр Миколайович закінчив навчання Київський технологічний інститут харчової промисловості у 1985 р. та отримав спеціальність інженер-технолог мікробіологічних та вітамінних виробництв. Нині Олександр Миколайович стоїть у керма гіганта фармацевтичної індустрії України, обіймаючи посаду виконавчого директора ПАТ «Київмедпрепарат» корпорації «Артеріум». Приємно відзначити, що рідна Alma mater завжди в його серці. Олександр Миколайович бере участь у найважливіших, найзнаменніших подіях у житті кафедри: багато років очолює роботу Державної екзаменаційної комісії із захисту дипломів, сприяє проведенню Всеукраїнської олімпіади з біотехнології на базі кафедри. Очолюване ним підприємство всіляко сприяє розвитку кафедральної матеріально-технічної бази.

Олександр Миколайович Яцюк

Серед колег Олександра Миколайовича з корпорації «Артеріум» також багато тих, хто з вдячністю згадує студентські роки на кафедрі біотехнології і мікробіології.

Уланов Михайло Миколайович закінчив Український державний університет харчових технологій у 1997 році (так тоді називався Національний університет харчових технологій), отримавши кваліфікацію інженер-біотехнолог. Нині Михайло Миколайович кандидат технічних наук, старший

науковий співробітник, директор НВЦ «Біомаса» Інституту технічної теплофізики НАН України.

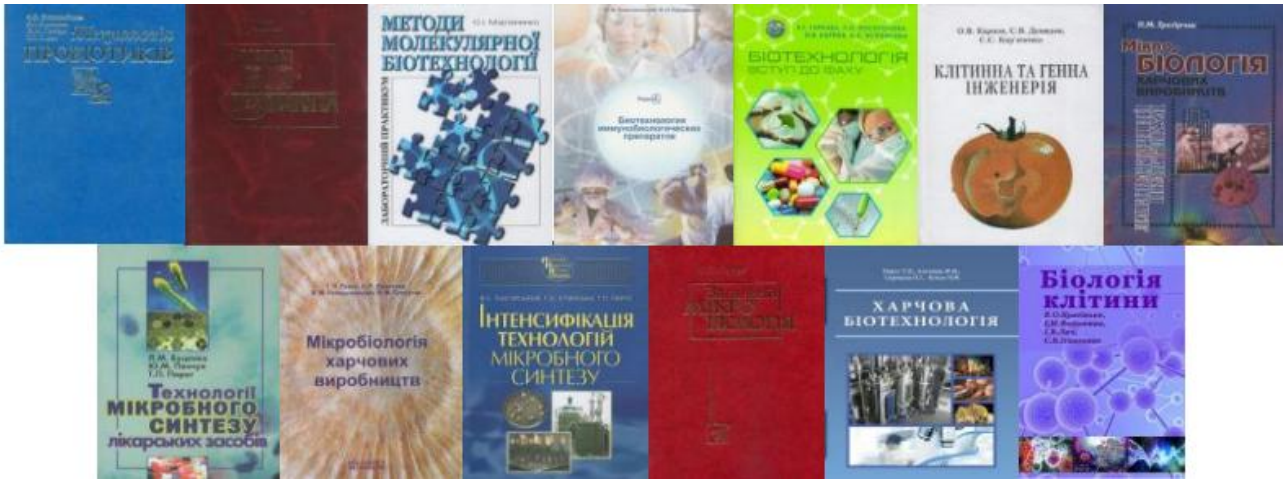
Шкотова Людмила Василівна закінчила Український державний університет харчових технологій у 2001 році, отримала диплом спеціаліста з «Біотехнології». У 2001році вступила до аспірантури Інституту молекулярної біології і генетики (ІМБіГ) НАН України. У 2006 році успішно захистила кандидатську дисертацію. Нині Людмила Василівна – старший науковий співробітник Інституту молекулярної біології і генетика НАН України.

У 2004 році вона стала стипендіатом Національної академії наук України, у 2005 році – отримала премію за наукову публікацію з біотехнології серед молодих вчених ІМБіГ НАН України, у 2006 році – премію Національної академії наук України для молодих вчених, у 2007 році – премію за кращій результат винахідницької діяльності ІМБіГ НАН України, у 2008 року – була стипендіатом Президента України для молодих вчених, у 2009 році – була лауреатом премії Президента України для молодих вчених.

Ювіляра, як відомо, красять не роки, а заслуги. Сьогодні наша кафедра є повноправним учасником створення національної технічної еліти нашої країни. На нинішньому етапі кафедру характеризує широкий спектр новітніх спеціалізацій підготовки фахівців, висококваліфікований викладацький склад: 3 доктори наук, професори, 15 кандидатів наук, доцентів, у тому числі Лауреати Державної премії в галузі науки й техніки (д.б.н. Т.П. Пирог, д.б.н. О.В. Карпов), Лауреати Державної премії Президента України для молодих вчених (к.т.н. Ю.М. Пенчук, к.б.н. С.О. Старовойтова) та Лауреати Премії Верховної Ради України найталановитішим молодим вченим в галузі фундаментальних і прикладних досліджень та науково-технічних розробок (к.б.н. О.І. Скроцька, к.б.н. І.В. Лич).

Президент України В.Ющенко вручає дипломи лауреатів Державної премії України у галузі науки і техніки д.б.н., проф. Пирог Т.П., д.б.н., проф. Карпову О.В., диплом лауреата премії Президента України для молодих учених к.т.н., доц. Пенчуку Ю.М., грант Президента України для обдарованої молоді одержує к.б.н., доц. Старовойтова С.О., а дипломи лауреатів премії Верховної Ради України найталановитішим молодим ученим в галузі фундаментальних і прикладних досліджень та науково-технічних розробок к.б.н., доц. Лич

Великий науковий потенціал і добрі традиції, що склалися у педагогічному колективі кафедри, накопичений цінний досвід дозволяють нам сьогодні стрімко розвиватися, удосконалювати освітній процес, успішно впроваджуючи сучасні освітні технології, плідно здійснювати видавницьку діяльність. Тільки за останні роки колективом кафедри підготовлено до друку та видано 16 підручників та навчальних посібників (більшість з них – з грифом Міністерства освіти і науки України), за якими навчаються біотехнологи усієї України.



Навчальна література, видана співробітниками кафедри

Науково-педагогічний колектив кафедри перебуває у постійному творчому пошуку й у тісній взаємодії із провідними науково-дослідними установами нашої країни й зарубіжжя. Кафедра успішно розвиває наукові й освітні контакти із Польщею, Німеччиною, Естонією, Ізраїлем та іншими країнами.

Значний інтелектуальний потенціал, унікальні можливості для досліджень і талановитий професорсько-викладацький склад дозволяють зосередитися на пріоритетних напрямках освіти і науки. На кафедрі завжди приділяли багато уваги підвищенню якості підготовки фахівців. За роки свого існування кафедра підготувала понад 60 кандидатів та 6 докторів наук. Тільки за останні 4 роки кандидатські дисертації підготували та захистили Гриценко Н.А, Софілканич А.П., Конон А.Д., Ігнатенко С.В., Стойко В.І., Омельчук Є.О. Визначальною рисою випускників кафедри є те, що це високо ерудовані, фундаментально підготовлені, мотивовані до професійної діяльності фахівці.

Відзначаючи свій ювілей, кафедра біотехнології і мікробіології (БТМ) Національного університету харчових технологій вправі пишатися досягнутими високими результатами. Істотно розширилася освітня діяльність кафедри, ліцензовано нові спеціальності та спеціалізації, зокрема зараз на кафедрі ведеться підготовка за трьома спеціалізаціями («Індустріальна біотехнологія», «Фармацевтична біотехнологія» та «Природоохоронні біотехнології») у межах спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Ліцензований обсяг підготовки бакалаврів денної форми на кафедрі сягає нині 120 осіб, заочної – 75. Ліцензований обсяг підготовки магістрів: 70 осіб денної і 20 – заочної форм навчання. У 2016 році кафедрою, однією з перших в Україні, ліцензовано освітньо-науковий рівень (PhD) з спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». У навчальному процесі максимально враховуються досягнення сучасної біотехнологічної науки, застосовуються передові освітні технології.

Випускники кафедри незмінно показують глибокі знання й творчий підхід до рішення поставлених завдань.

Нинішня кафедра БТМ – це поєднання традицій і інновацій в області інженерної освіти. Продовжуючи свої кращі традиції, кафедра створює умови й можливості для творчого розвитку, підтримує культ знань і прагнення студентської молоді до досягнення успіху. І це приносить свої гарні плоди. Тільки за останні п’ять років науковою молоддю нашої кафедри зібрано щедрий «врожай» почесних нагород. Студенти, науковим керівником яких була Пирог Т.П., за 2009–2016 рр. отримали 30 дипломів I–III ступеня на Всеукраїнських конкурсах студентських наукових робіт і у II турі Всеукраїнської олімпіади з біотехнології, а також Грамоту Національної академії наук України. В цілому ж «скарбничка» наукових досягнень наших студентів за останні роки: більш, як 50 дипломів та грамот на Всеукраїнських конкурсах студентських наукових робіт. Варто відзначити, що наші студенти виборюють призові місця на наукових конкурсах не тільки за напрямом «Біотехнологія». Вони є традиційними переможцями конкурсів студентських наукових робіт за напрямами: «Біологічні науки», «Харчова промисловість та переробка сільськогосподарської продукції», «Екологія та екологічна безпека», «Хімічні технології», мають призові місця за напрямами: «Нафтова та газова промисловість», «Теоретична медицина», «Агрономія», «Експертиза харчових продуктів», що свідчить про глибоку теоретичну та наукову підготовку вихованців кафедри та широту їх наукових інтересів.

Наші студенти, магістранти і аспіранти традиційно є стипендіатами та преміантами Київського міського голови, мають нагороди від Голосіївської районної у місті Києві державної адміністрації .

Історія кафедри біотехнології і мікробіології як випускової – це 50 років завзятої роботи, творчого пошуку й заслуженого визнання. Колектив кафедри може по праву пишатися своєю славною біографією, унікальними науковими школами, іменами викладачів і випускників. Кафедра була і залишається флагманом системи підготовки висококваліфікованих фахівців для біотехнологічної та фармацевтичної галузей. А кругла дата – точка відліку для майбутніх досягнень і успіхів!

Викладацький колектив кафедри біотехнології і мікробіології

СЕКЦІЯ 1. ПРОБЛЕМИ ІНЖЕНЕРНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ОСВІТИ У ВИЩІЙ ШКОЛІ

ЯКІСТЬ КУРСОВОГО ТА ДИПЛОМНОГО ПРОЕКТУВАННЯ – ЗАПОРУКА УСПІШНОЇ ПІДГОТОВКИ ВИСОКОКВАЛІФІКОВАНИХ КАДРІВ ДЛЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ

Юрій Карлаш, Тетяна Пирог

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Анотація. Розглянуто завдання та проблеми інженерної біотехнологічної освіти в Україні на прикладі 50-річного досвіду кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій. Одним з основним факторів, що визначають ступінь підготовки інженера-біотехнолога до майбутньої професійної діяльності, є рівень курсового та дипломного проектування на відповідних випускових кафедрах.

Ключові слова: *інженерна біотехнологічна освіта, якість, курсове та дипломне проектування.*

Найважливішою умовою успішного розвитку вітчизняної біотехнології є підвищення якості інженерної біотехнологічної освіти, формування нової генерації біотехнологів, що висуває особливі вимоги до практичної підготовки майбутніх фахівців.

Багаторічний досвід підготовки фахівців і спеціалістів для біотехнологічної галузі України у Національному університеті харчових технологій (НУХТ) засвідчує, що основним ключовим положенням концепції біотехнологічної освіти є комплекс біологічних, хімічних та інженерних наук. Саме поєднання навчальних дисциплін біологічного, хімічного та інженерного спрямування у навчальних планах є запорукою підготовки висококваліфікованих кадрів для біотехнологічної промисловості. Це досить

непросте завдання, оскільки фактично підготовка біотехнологів у вищих навчальних закладах передбачає одночасне глибоке вивчення та засвоєння основних дисциплін спеціальності «Біологія» («Загальна мікробіологія», «Біохімія», «Імунологія», «Генетика», «Вірусологія» тощо), «Хімія» («Загальна та неорганічна хімія», «Органічна хімія», «Фізична та колоїдна хімія», «Аналітична хімія», «Хімія гетероциклів», «Фармацевтична хімія») та інженерних спеціальностей («Процеси та апарати виробництв», «Устаткування галузі», «Основи проектування», «Автоматизація виробничих процесів», «Системи автоматичного проектування тощо) [1].

Реалізація цієї концепції підготовки біотехнологів можлива лише у технологічних і технічних вищих навчальних закладах, які мають і відповідні наукові та науково-педагогічні кадри, і відповідну матеріально-технічну базу. Крім того, саме в технічних і технологічних університетах формується інтелектуальний, професійний та творчий потенціал майбутніх фахівців і спеціалістів, здатних створювати і реалізувати конкурентоспроможні інноваційні проекти у виробничій практиці. В умовах підвищення складності, розширення функціональної різноманітності технічних об'єктів та систем, прискорення темпів зміни їх поколінь, ключового значення набуває проблема впровадження інноваційних освітніх технологій, основу яких становлять новітні наукові відкриття і системні методи аналізу і синтезу знань, орієнтованих на інтенсифікацію та ефективне використання когнітивних процесів мислення майбутніх спеціалістів, здатних до генерації нових ідей, гіпотез і проектів [1].

Саме органічне поєднання трьох освіт (біологічної, хімічної та інженерної) в одній, глибоке опанування хімічних та біологічних дисциплін, одержання спеціальних інженерних знань і вмінь робить підготовку інженерних кадрів на кафедрі біотехнології і мікробіології НУХТ ґрунтовною та всебічною. Набуття нашими студентами знань і вмінь зі створення нормативно-технічної та інженерно-конструкторської документації, знайомство з основами

розроблення та впровадження у промисловість стандартів GMP, HACCP робить їх найбільш конкурентоздатними в умовах сучасного ринку праці. Наші випускники, маючи університетський рівень підготовки з біологічних та хімічних дисциплін, є високопрофесійннми інженерами, здатними створювати регламенти технологічних і фармацевтичних виробництв. розробляти та впроваджувати інші сучасні нормативно-технічні документи [2].

Півстолітній досвід кафедри біотехнології і мікробіології Національного унівреситету харчових технологій переконливо довів правильність такого підходу при підготовці фахівців для біотехнологічної галузі [3].

Але час не стоїть на місці, змінюється вимоги до фацівців, їх професійної підготовки, що вимагає від колективу кафедри удосконалення навчально-методичної роботи, пошуку нових форм викладання начальних дисциплін.

Вінцем інженерної біотехнологічної освіти є курсове та дипломне проектування. Це той пазл, в якому складають воєдино усі знання та навички, набуті студентами при вивченні усіх дисциплін. Якість курсових та дипломних проектів характеризує в цілому якість підготовки майбутнього фахівця і може бути мірилом організації та проведення навчального процесу на кафедрі.

За останні роки кафедрою було переглянуто концепцію курсового та дипломного проектування. Основна ідея полягає у розробці наскрізної схеми проектування, коли на кожному курсі виконуються окремі розділи дипломного проекту з подальшим їх ускладненням при вибраній темі проекту. Це дозволяє студентам більш глибоко опановувати матеріали супутніх дисциплін для використання їх у процесі проектування. Так, вже на третьому курсі при виконанні курсової роботи з дисципліни «Технології мікробного синтезу лікарських засобів» студенти обирають найбільш ефективний біологічний агент для отримання заданого цільового продукту, використовуючи при цьому техніко-економічні критерії підбору складу поживного середовища. На четвертому курсі при викладанні дисципліни «Основи проектування біотехнологічних виробництв» на практичних заняттях студенти вчаться

робити продуктовий розрахунок, складати матеріальний баланс виробництва, розраховувати та підбирати основі типи технологічних апаратів, підбирати виробничі приміщення для розміщення технологічного обладнання. Отримані результати вони в подальшому використовують під час виконання відповідних розділів курсового та дипломного проектів.

Проте позитивний результат був би неможливий без кардинального перегляду змісту навчально-методичної літератури з курсового та дипломного проектування. За останні п’ять років кафедрою було розроблено 12 методичних рекомендацій до виконання курсового та дипломного проектування. Підвищенню якості виконання курсових та дипломних проектів сприяв також перегляд програм загально-інженерних навчальних дисциплін («Процеси та апарати виробництв», «Устаткування галузі», «Основи проектування», «Інженерна та комп'ютерна графіка»), які було націлено на отримання студентами навичок та вмінь, необхідних для виконання розділів курсового та дипломного проектування. Вже у процесі вивчення дисципліни «Інженерна та комп'ютерна графіка» студенти вчаться комп’ютерному кресленню елементів технологічної та апаратурної схем, використовуючи прикладні графічні пакети Компас та AutoCAD. При проведенні технологічних розрахунків студентами широко використовується програмне забезпечення MS Exel та MathCAD.

Підвищенню якості виконання курсових та дипломних проектів сприяло також постійне підвищення кваліфікації викладачів керівників кваліфікаційних робіт студентів, рівень компетенції яких є вагомою складовою правильної організації та виконання інженерно-конструкторських робіт. Виїзди викладачів на передові підприємства та в науково-дослідні установи галузі, відвідування семінарів та конференцій, виставок, присвячених сучасним досягненням у галузі біотехнології, дало змогу значно підвищити їх професійну кваліфікацію і посилити вимоги до якісного виконання курсових та дипломних проектів.

Сучасні виклики інформаційної революції, поява нових IT-технологій та мобільних пристроїв вимагають нині від університетів та кафедр перегляду використовуваних та впровадження нових передових освітніх технологій у процесі курсового та дипломного проектування.

Впровадження таких технологій у вищу освіту передбачає змішане формальне та неформальне, персоналізоване навчання та навчання комплексному мисленню, конкуруючі моделі навчання та винагородження викладання. Якщо перша модель відома і реалізується упродовж 1□2 років навчання з використанням особистих мобільних пристроїв та «перевернутих аудиторій», то шляхи реалізації інших ще вивчаються [4].

Використання особистих мобільних пристроїв у навчанні передбачає практику, за якої студенти приходять на навчання з власними ноутбуками, планшетами, смартфонами, підключаються до локальної мережі вищого навчального закладу у режимі WI-FI та використовують її в процесі навчання.

Дана практика, правда, дещо в спотвореному вигляді, нині фактично використовується студентами на лекційних заняттях. Вони фотографують матеріали, представлені у презентації на екрані, і в такому вигляді використовують їх для позаудиторної підготовки. Внаслідок цього виникають питання ефективності використання контенту, представленого на лекціях, в самому сенсі проведення такої форми аудиторих занять та участі в них студентів. Власне, така форма навчання переходить у різновид дистанційного, що не передбачає фізичної присутності студента.

Крім того, наявність електронних ресурсів та їх швидкий доступ в режимі «on-line» дозволяє студенту в будь-який момент часу скористатись ними безпосередньо в аудиторії, що зводить участь студента на заняттях до контролю за викладачем: чи відповідає текст ресурсу тому, що говорить викладач? Все це вимагає перегляду підходів до проведення аудиторних занять в сенсі використання особистих мобільних пристроїв.

Досвід використання таких пристроїв вже накопичено у багатьох закордонних вищих навчальних закладах [4].

Технології «перевернутих аудиторій» є складовою змішаного формального та неформального навчання. «Перевернутою аудиторією» називають таку модель навчання, за якої час, відведений на заняття в аудиторії та позааудиторне навчання, розподіляється таким чином, що активним учасником процесу навчання стає студент, а не викладач. Згідно цієї моделі цінний час в аудиторії витрачається на пізнавальний, більш активний процес навчання, під час якого студенти намагаються вирішити локальні або глобальні проблеми, вирішити практичні завдання аби краще зрозуміти предмет. Викладач при цьому не витрачає час на передачу знань студентам – кожний з них самостійно засвоює матеріал після аудиторних занять, переглядає відеолекції, читаючи електронні підручники або спілкуючись зі своїми колегами-студентами в онлайн-спільнотах. Викладачі при цьому можуть більше часу приділити взаємодії з кожним студентом під час проведення семінарських або практичних занять та проконтролювати якість засвоєного матеріалу. Дана технологія навчання все ширше використовується у світі [4].

Деякі елементи технології «перевернутих аудиторій» вже знайшли своє використання під час курсового проектування з дисципліни «Основи проектування біотехнологічних виробництв». Так, у процесі перевірки результатів продуктового розрахунку, матеріального балансу та розрахунку основного технологічного обладнання в курсовому проекті використовується режим дистанційного навчання, коли студент надсилає викладачу результати розрахунку і після перевірки використовує їх в курсовому проекті.

Впровадженню таких сучасних освітніх технологій у вітчизняних вишах перешкоджає анахронічна система оцінки роботи викладача, яка базується на врахуванні, в основному, аудиторного навантаження. Лише кардинальна зміна цієї системи оцінюванання дозволить університетам швидко впроваджувати ці сучасні освітні технології і конкурувати в глобальній системі вищої освіти.

Перед Україною нині стоять глобальні завдання, пов'язані з інтенсивною інтеграцією країни у світовий економічний простір, формуванням сприятливого інвестиційного клімату, підвищенням конкурентоспроможності вітчизняної промисловості. Реалізовувати ці завдання мають конкретні люди, передусім фахівці з дипломами інженерів. Колектив кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій не зупиняється на досягнутому, а впевнено нарощує свій потенціал та робить усе можливе для підготовки молодих талановитих інженерів і науковців у галузі біотехнології.

Список літератури

1. *Пирог Т.П., Грегірчак Н.М*. Концепція біотехнологічної освіти вУкраїні в контексті Болонського процесу // Зб. праць X Всеукраїнської науково-методичної конференції «Вища освіта і шляхи забезпечення якості» (28□29 листопада 2013 р., Київ). – К.:НТУУ «КПІ», 2013. – С.215□218.

2. *Пирог Т.П., Красінько В.О., Скроцька О.І.* Становлення інженерної біотехнологічної освіти в Україні // Мікробіол. журнал. □ 2014. □ Т.76, №3. □ С. 59□62.

3. *Пирог Т.П., Красінько В.О., Скроцька О.І.* Національний університет харчових технологій – піонер та лідер інженерної біотехнологічної освіти в Україні // Biotechnologia acta. – 2014. – Vol. 7, № 2. – P. 118□122.

4. *Jonson L. Adams Becker S., Estrada V., Freeman A*. Отчет NMC Horizon: Высшее образование–2015 // Остин, Техас: New Media Consortium/Режим доступа: 2015-nmc:horizon-report-he-RU.pdf.

ПРАКТИЧНА ПІДГОТОВКА МАЙБУТНІХ БІОТЕХНОЛОГІВ

Євген Омельчук

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Анотіція. В статті розглядаються особливості та проходження технологічної та переддипломної практик студентами кафедри біотехнології і мікробіології на підприємствах біотехнологічної, фармацевтичної, харчової галузі, а також науково-дослідних інститутах. Розглянуто приклади успішного працевлаштування студентів на підприємствах, після проходження практики на них.

Ключові слова: кафедра біотехнології і мікробіології, практична підготовка студентів, технологічна практика, переддипломна практика, бази практики, працевлаштування

Обов’язковим елементом освітньо-професійної підготовки майбутніх спеціалістів є практика. Практична підготовка студентів передбачає отримання потрібного обсягу практичних знань і вмінь та гармонізує теоретичну підготовку в університеті з реаліями функціонування підприємств.

В період практики у студентів закладаються основи досвіду професійної діяльності, практичних умінь і навичок, професійних якостей особистості фахівця. Від ступеня успішності на цьому етапі залежить професійне становлення майбутнього фахівця.

Наразі студенти кафедри біотехнології і мікробіології проходять такі види практики:

– освітній ступінь "бакалавр" – технологічну та переддипломну практики у січні-лютому на IV курсі навчання;

– освітній ступінь "спеціаліст" – переддипломну практику у квітні;

– освітній ступінь "магістр" – науково-педагогічну практику у вересні-жовтні на ІІ курсі навчання.

В сфері практичної підготовки студентів кафедра біотехнології і мікробіології співпрацює з такими провідними фармацевтичними, харчовими та біотехнологічними підприємствами України, як ПАТ «Фармак» (найбільша в Україні компанія-виробник фармацевтичної продукції за версією журналу Forbes Україна), ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» (один із лідерів фармацевтичного ринку України), ПАТ «Київмедпрепарат» (входить до складу корпорації «Артеріум» – лідера у виробництві антибіотиків в Україні), ПрАТ «Ензим» (лідер виробництва хлібопекарських дріжджів в Україні), ПАТ Науково-виробничий центр «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» (перше в Україні фармацевтичне підприємство, що повністю впровадило міжнародні стандарти в сфері якості, дистрибуції, екологічного та енергетичного менеджменту, охорони здоров‘я та безпеки праці персоналу та соціальної відповідальності), ПрАТ «Біофарма» (провідне підприємство України в напрямку розробки та виробництва біотехнологічних фармацевтичних препаратів), ПрАТ "Підприємство по виробництву інсулінів «Індар» (провідне фармацевтичне підприємство України, що спеціалізується на виготовленні препаратів проти цукрового діабету), ПАТ «Яготинський маслозавод» та його філія «Яготинське для дітей» (лідер виробництва молочної продукції в Україні).

Наукова робота теж є невід'ємною частиною практичної підготовки біотехнологів, тому наші студенти проходять практику в провідних наукових установах України в рамках виконання науково-дослідної роботи. Це Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, Інститут молекулярної біології і генетики НАНУ, Інститут біохімії ім. М.К. Палладіна НАНУ, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАНУ, Інститут клітинної біології та генної інженерії НАНУ, Інститут харчової біотехнології та геноміки НАНУ,

Інститут продовольчих ресурсів НААН, Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМНУ.

Кризові процеси, які наразі відбуваються в Україні, також в значній мірі відобразились на якості проходження практики студентами. Насамперед це відобразилось на неможливості якісного забезпечення університетом умов проживання студентів під час проходження практики поза межами Києва. Тому співпрацю із такими базами практики як ПрАТ "Біолік" та ПАТ "Харківський завод харчових кислот" (м. Харків), ПАТ "Ензим" (м. Ладижин), ПрАТ "Технолог" (м. Умань), ПАТ "Новофарм-Біосинтез" та ПАТ "Біоветфарм" (м. Новоград-Волинський), ТОВ "Біостимулятор" (м. Одеса), ПАТ "Лубнифарм" (м. Лубни) та ПАТ "Дніпрофарм" (м. Дніпро) кафедра біотехнології і мікробіології вимушена була припинити.

Студенти 4 та 5 курсів 2014-2015 на практиці на ПрАТ «ФФ»Дарниця»

Нажаль кількість місць на основних фармацевтичних та біотехнологічних підприємствах м. Києва та Київської області, де могли б проходити практику студенти-біотехнологи, є обмеженою, тому половина студентів вимушена проходити практику на харчових та фармацевтичних підприємствах за місцем проживання по усій території України.

Розподіл студентів на практику здійснюється згідно рейтингу, який включає в себе результати за 2 останні сесії та результати наукових здобутків у вигляді тез у матеріалах конференцій та статей.

Біля ферментаційної апаратури на ПрАТ «Біофарма»

Практика це не тільки можливість поглибити свої теоретичні знання і практичні навики це ще й можливість знайти роботу за фахом після закінчення університету. Часто представники підприємств, оцінивши рівень підготовки студентів та наполегливість в освоєнні нових навичок і вмінь, пропонують в подальшому йти працювати саме до них.

Ось відгуки випускників нашої кафедри, які знайшли роботу на підприємствах, на яких раніше проходили практику.

Технік-технолог ділянки виробництва інсулінів на ПАТ «Фармак» та аспірант кафедри БТМ Івахнюк Микола: «Щорічно кафедра БТМ виділяє студентам місця для проходження практики на різних підприємствах України. Завдяки високому рейтингу я мав змогу одним із перших обрати бажане підприємство, і, звичайно, вибір був направлений на лідера фарм ринку України – ПАТ "Фармак". Відразу по закінченню практики мене попросили

залишити своє резюме і через короткий час перетелефонували із проханням прийти на співбесіду. Співбесіда виявилася успішною і зараз я працюю техніком-технологом на дільниці виробництва інсуліну».

Начальник відділу продажу ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» Шкотов Роман: «Проходячи виробничу практику на ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», я був здивований високою культурою виробництва, освіченістю працівників та гарним ставлення керівництва до персоналу – відразу вирішив прикласти всіх зусиль, щоб стати членом дружної команди професіоналів флагману української фармації. Тому відразу після захисту диплому спеціаліста влаштувався інженером-технологом на виробництво м’яких та твердих лікарських засобів».

Молодший науковий співробітник лабораторії технології м’ясних продуктів Інституту продовольчих ресурсів Башкірова Анна: «Я проходила переддипломну практику у цьому інституті, мені сподобалось. Тут гарні та привітні люди, крім того науково-дослідні установи мають певний шарм, що дуже підкуповує. Можливо саме тому, після отримання диплому я вирішила, що хочу там працювати. Отримавши рекомендації від проф. Пирог Т.П. я попрямувала на співбесіду до директора ТІММ, і виявилося, що є вакантне місце у лабораторії технології м’ясних продуктів. Після співбесіди мене влаштували на роботу».

Отже, практика студентів-біотехнологів це невід'ємна складова навчального процесу, її основна мета - вдосконалювати набуті практикантами знання та формувати практичні навички для досягнення встановленого рівня кваліфікації. Успішне проходження практики на підприємстві може стати передумовою успішного працевлаштування на ньому після закінчення навчання.

СЕКЦІЯ 2. ІНДУСТРІАЛЬНА ТА ХАРЧОВА БІОТЕХНОЛОГІЯ

PUBLIC EXPOSURE TO NORMS DUE TO INTAKE OF FOOD SALT IN IRAQ

Ali Abid Abojassim, Suha Hadi Kadhim, Ruqaya Jabir Hadi, Allawi Hamed

University of Kufa, College of Science, Department of Physics, Najaf, Iraq

Abstract. Salt is one of the important compounds in the life of organisms as it is necessary for humans, animals and plants, it works to balance the amount of water in the body, and its importance for large cells of the body and metabolism in the cell, and thus is a necessity for survival. In this paper the activity concentrations of the radionuclides ^{226}Ra, ^{232}Th and ^{40}K and annual effective dose in several samples of table salt that are available in Iraqi markets have been estimated. These radionuclides in all samples were measured using gamma ray spectroscopy NaI(Tl) detector. The results showed that, the average value of activity concentrations for ^{226}Ra,^{232}Th and ^{40}K in samples under study were 3.211 Bq/kg, 9.871 Bq/kg and 109.33 Bq/kg respectively. Also, it was found that the average value of annual effective dose due to ^{226}Ra, ^{232}Th and ^{40}K were (8.993 ,0.227 and 6.778) μSv/y respectively. The results of this study establish baseline values which probably be useful for the Regulatory Authorities in the country to control public exposure to NORMS due to intake of salt.

Keyword: Public exposure, NORMS, Gamma-ray, table salt and Iraq markets.

Introduction. The spontaneous nuclear transformations from unstable radionuclides that occur naturally in the earth's crust (i.e. terrestrial origin), as well as those coming from outer space in the atmosphere (i.e. an extraterrestrial origin) result in the emission of natural ionizing radiation. Gamma radiation because electromagnetic radiation is often accompanied by the emission of alpha or beta particles from the

nucleus. Human exposure to ionizing radiation from natural sources, including cosmic rays and terrestrial radiation [1, 2]. Humans have always been exposed to natural radiation that arise from within and outside the earth. Exposure to ionizing radiation from natural sources is incurred by naturally occurring radioactive elements that exist within the soil and rocks, and cosmic rays that enter the Earth's atmosphere from outer space (external exposure) which transmit to human body through food, water and air. Natural radioactivity in the soil comes primarily from U and Th series and natural K. Effects of radiation resulting from these radionuclides is due to the gamma ray exposure of the body and irradiation of lung tissue due to inhalation of radon and its daughters. Therefore, the dose of gamma radiation from natural sources assess is particularly important where the natural radiation is the largest shareholder in the external dose of the world's population [3]. In addition to its considerable contribution to the collective dose , estimation of external gamma dose due to the terrestrial sources is necessary because of variations of the individual dose related to this pathway. The variation of these doses depends upon the concentrations of the natural radionuclides, ^{238}U, ^{232}Th, their daughter products and ^{40}K, present in the soils and rocks, which in turn depend upon the local geology of each region in the world [4, 5]. Analyzing the occurrence of the essential elements to human health in many foods is very important. Salt is a highly consumed compound by Iraqi population for both medicinal and nutritional use what makes its analysis very important. The salt contains about 98.5 % NaCl and 1.5 % other salt. The salt and its derivatives are used in many industries [6]. So, The study of concentrations radionuclides content in salt is desirable. Levels of natural background radiation by analysis of radionuclides concentrations in salt samples have been studied in several researches [6-8]. In Iraq , the high consumption rate of table salt by the population raises health problems and as the country makes significant efforts in promoting its salt industry. Therefore, This study determines the specific activity of NORMS in table salt and investigated the extent to which the general public is exposed to it according to the intake of salt as part of the national effort to establish baseline values for the Regulatory Authorities to control the exposure of the public to NORMS due to the consumption of salt in Iraq.

Materials and Methods.

1. Sample Collection and Preparation

The sampling was carried out in the month of October, 2015 when the weather conditions were fairly stable. Eleven [11] brands of the most available types of table salt were collected from the local markets in Iraq to measure natural activity and to estimat some of radiological parameters such as radium equivalent activity, internal hazard indices and annual effective dose. The types of samples are listed in table 1. After collection, each salt sample was kept in a plastic bag and labeled according to its name. Then the samples were electronically crushed, using an electric mill. For homogeneity, the samples were sieved (0.8 mm); they were kept moisture-free in an oven, in order to reach a constant weight. These samples were packed in a 1 L polyethylene plastic marinelli beakers of constant volume to reach a geometric homogeneity around the detector, then the respective net weights were measured and recorded with a high sensitive digital weighing balance with a percent of ±0.01 %. After that, the plastic marinelli beakers were sealed with a PVC tape, and stored for about one month before counting, to allow secular equilibrium to be attained between ^{222}Rn and its parent ^{226}Ra in uranium chain [9, 10].

Table1. Types and origin of salt samples in present work

No	Sample Code	Sample Name	Country of Origin
1	S1	ALSHAM	JORDAN
2	S2	FIDO	EMIRATES
3	S3	ZER	TURKEY
4	S4	AL-AMEEN	IRAQ
5	S5	AL-REEM	IRAQ
6	S6	ROJDA	TURKEY
7	S7	2000	IRAN
8	S8	AL-MANSOUR	IRAQ
9	S9	KHOSH	TURKEY
10	S10	ARD AL-BARAKA	IRAQ
11	S11	SOLTI	SAUDI ARABIA

2. Measurement System

Natural radioactivity levels were measured using a gamma spectrometer which includes gamma multichannel analyzer equipped with NaI(Tl) detector of (3"×3") crystal dimension ORTEC Maestro-32 data acquisition and analysis system. The detector had coaxial closed facing geometry with the following specifications: The calculated resolution is 7.9 % for energy of 661.66 keV of ^{137}Cs standard source. Relative efficiency at 1.33 MeV ^{60}Co was 22.2 % and at 1.274 MeV ^{22}Na was 24.4%. The detector was shielded by a cylindrical lead shield in order to achieve the lowest background level. An energy calibration for this detector was performed with a set of standard γ-ray 1-μCi active ^{137}Cs, ^{60}Co and ^{22}Na sources. In this study, the activity concentration of ^{40}K was determined directly from the peak areas at 1460 keV. The activity concentrations of ^{226}Ra and ^{232}Th were calculated assuming secular equilibrium with their decay products. The gamma transition lines of ^{214}Bi (1765 keV) were used to calculate activity concentration of radioisotope in the ^{238}U-series. The activity concentrations of radioisotope in the ^{232}Th-series were determined using gamma transition lines of ^{208}Tl (2614 keV). The counting time for each sample was at 18000 sec.

3. Calculation of Specific Activity and Radiation Hazard Parameters

Since the counting rate is proportional to the amount of the radioactivity in a sample, the Activity Concentration (Ac) which can be determined specific activity as the follows [11, 12]:

$$Ac = \frac{C - BG}{\varepsilon\% MtI_{\gamma}} \qquad (1)$$

Where Ac is the specific activity, C is the area under the photo peaks, ε% is percentage of energy efficiency. Iγ is the percentage of gamma-emission probability of the radionuclide under consideration, t is counting time, M is mass of sample and BG is background.

Activity of Radium equivalent (Ra_{eq}) is used to assess the hazards associated with materials that contain ^{226}Ra, ^{232}Th and ^{40}K in Bq/kg, which is, determined by assuming that 370 Bq/kg of ^{226}Ra or 260 Bq/kg of ^{232}Th or 4810 Bq/kg

of ^{40}K produce the same gamma dose rate. The Ra_{eq} of a sample in (Bq kg^{-1}) can be determined using the following relation [12-14];

$$Ra_{eq}(Bq/Kg) = C_{Ra} + 1.43C_{Th} + 0.077C_K \qquad (2)$$

Where C_{Ra}, C_{Th}, and C_K are the specific activities of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K (in Bq/kg) respectively. The published maximal permissible Ra_{eq} is 370 Bq/kg [15].

The internal hazard index H_{in} can be calculated using the following equation [12, 14,16].

$$H_{in} = (C_{Ra} /185 + C_{Th} /259 + C_K /4810) \leq 1 \qquad (3)$$

Where C_{Ra}, C_{Th}, and C_K are the activity concentrations of ^{226}Ra, ^{232}Th, and ^{40}K in Bq/Kg, respectively. the value of H_{in} must also is less than unity to have negligible hazards effects of radon and its short-lived progeny to the respiratory organs[12].

The annual effective dose, E (mSv/y) to an adult individual due to intake of natural radionuclides in salt was calculated on the basis of the **Specific activity** of the radionuclides. The daily salt consumption rate was taken to be 10 g per day [17]. The annual effective dose owing to ingestion of ^{238}U, ^{232}Th and ^{40}K in salt was calculated using equation[8,12].

$$E = \Sigma As \times Is \times CFs \ldots \qquad . (4)$$

where; As is the specific activity of radionuclides (Bql^{-1}), Is is the annual intake of salt ($l\ y^{-1}$), CFs is the dose conversion factor ($SvBq^{-1}$). The conversion factor 'E' varies with both radioisotopes and the age of the individual are determined by ICRP 1996, IAEA 1996 and UNSCEAR2008 [2,18,19], which is 2.8×10^{-7} for ^{226}Ra , 2.3×10^{-7} for ^{232}Th and 6.2×10^{-9} for ^{40}K .

Results and discussion. The measured specific activities of ^{226}Ra, ^{232}Th and ^{40}K detected in the samples of salt in this paper are summarized in Table 2. It can be noticed that the ^{238}U (^{226}Ra) specific activities detected in most of samples vary between (0.052848) Bq/kg (at sample S6) to (7.068484) Bq/kg (at sample S9) with an average value of (3.211902) Bq/kg. For ^{232}Th and ^{40}K the measured specific activity ranged from

(5.582019) Bq/kg (at sample S4) to (15.64921) Bq/kg (at sample S10) with an average value of (9.871243) Bq/kg and from (48.7359476) Bq/kg (at sample S6) to (188.053953) Bq/kg (at sample S11) with an average value of (109.337226) Bq/kg, respectively. There is a variation in the specific activity of radionuclides in different salt samples, for example (S6) which is (ROJDA from TURKEY) has lowest ^{226}Ra concentration, while (S9) which is (KHOSH from TURKEY) has the maximum value, (S4) which is (AL-AMEEN)from IRAQ) has the lowest ^{232}Th concentration while the maximum is (S10) which is (ARD AL-BARAKA from IRAQ), the lowest ^{40}K concentration is (S6) which is (ROJDA from TURKEY) and the maximum value is (S11) which is (SOLTI from SAUDI ARABIA). The results obtained show that the specific activity of ^{226}Ra, ^{232}Th and ^{40}K in all salt samples appeared lower than recommended limit of UNSCEAR (2000) [20]. The radiation hazard indices (Radium equivalent activities and internal Hazard Index were calculated for all samples in this study as shown in Table (3).Ra-equivalent activities of salt samples can be calculated from the Eq. (2), the results obtain varied (48.14555-166.6534) Bq/kg with average (101.5174) Bq/Kg ,which are below the recommended value 370 Bq/kg [21]. The internal hazard index (H_{in}) results in salt samples was varied from (0.038946-0.127852) with average (0.078206), therefore average value is less than unity [20]. The annual effective dose can be calculated using Eq.(4) .The average and total of annual effective dose due to ^{226}Ra, ^{232}Th and ^{40}K in adult age were (8.993 ,0.227 and 6.778) μSv/y and 15.998 μSv/y respectively, which still it is less than those reported of (1 mSv/y) [22]. A comparison between the results of this study and the international values of other studies in other parts in the world such as Egypt [7] and Ghana [8] have been made. It was found the natural radioactivity levels in samples that available in Iraqi markets are not at the range of high risk of morbidity and are under international standards. The total annual effective dose for samples under study were under allowable levels and therefore there's no the risk of ionizing radiation effects on humans. One of the reasons for variation radionuclides in food salts due to, the amount of radioactive elements for geological soil that it is added the samples under study was so low that consumer health is not to be threatened.

Table 2. Specific activity of ^{226}Ra , ^{232}Th and ^{40}K in salt of samples

No	Sample Code	Specific Activity in Bq/kg		
		^{226}Ra	^{232}Th	^{40}K
1	S1	3.28	12.18	125.14
2	S2	0.48	8.60	104.63
3	S3	2.44	7.956	64.62
4	S4	0.53	5.582	80.65
5	S5	5.18	9.941	77.51
6	S6	0.05	7.388	48.73
7	S7	3.84	8.06	72.10
8	S8	4.75	7.25	97.21
9	S9	7.06	11.86	175.09
10	S10	5.97	15.64	168.93
11	S11	1.70	14.08	188.05
Average		3.21	9.87	109.33

Table 3. Radium equivalent activity and internal hazard index in some types of salt

No	Sample Code	Ra_{eq} (Bq/kg)	H_{in}
1	S1	117.07	0.090
2	S2	93.36	0.057
3	S3	63.58	0.057
4	S4	70.61	0.041
5	S5	79.08	0.082
6	S6	48.14	0.038
7	S7	70.89	0.066
8	S8	89.98	0.073
9	S9	158.85	0.120
10	S10	158.43	0.127
11	S11	166.65	0.102
Average		101.517	0.078

Table 4. Annual Effective Dose (μSv/y) of ^{238}U, ^{232}Th and ^{40}K in the salt samples

No	Sample Code	Annual effective Dose (μSv/y)			
		^{226}Ra	^{232}Th	^{40}K	Total
1	S1	9.191	0.280	7.759	17.23
2	S2	1.366	0.197	6.487	8.05
3	S3	6.832	0.183	4.0069	11.021
4	S4	1.488	0.128	5.0004	6.616
5	S5	0.145	0.228	4.805	5.178
6	S6	0.0147	0.169	3.021	3.204
7	S7	0.107	0.185	4.470	4.762
8	S8	0.133	0.166	6.027	6.326
9	S9	0.197	0.272	0.108	0.577
10	S10	0.167	0.359	0.1047	0.630
11	S11	4.781	0.324	0.116	5.221
Average		8.993	0.227	6.778	15.998

Conclusion. This study is important to assessment background radiation levels in salt because salt is a source of a number of elements and minerals essential and necessary for the human body and to do various biological processes in which. The gamma spectrometry method with a NaI (Tl) detector has been used for measurements radioactivity concentration of 11 salt samples collected from the local markets in Iraq. The average concentrations for ^{226}Ra ^{238}U series, ^{232}Th and ^{40}K were lower than guidance levels recommended by UNSCEAR. The averages values of Radiological hazard indices (radium equivalent ,internal hazard index and the annual effective dose rate) obtained in this study were far below the limit recommended by the World Health Organization and by the International Commission on Radiological Protection for radiological safety.

References

1. Charles M: UNSCEAR Report 2000: sources and effects of ionizing radiation. J Radiol Prot 2001, 21:83.

2. UNSCEAR. Sources and Effects of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. United Nations publication sales No. 10.IX.3. United Nations, United Nations Office at Vienna, 2008

3. UNSCEAR, Sources and Effects of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation, United Nations, New York. (1988).

4. Radhakrishna, A. P., Somasekarapa, H. M., Narayana, Y., Siddappa, K., A new natural background radiation area on the southwest coast of India. Health Physics 65, 390–395. (1993).

5. Quindos, L. S., Fernandez, P. L., Soto, J., Rodenos, C., Gomez, J., Natural radioactivity in Spanish soils. Health Physics 66, 194-200. (1994).

6. Sodd, V.J., Goldin, A.S. and Velten, R.J. (1960). Determination of radioactivity in saline waters. Vol. 32, No. 1, pp. 25.

7. El-Bahi, S.M. (2003). Radioactivity levels of salt for natural sediments in the northwestern desert and local markets in Egypt. Applied Radiation and Isotopes 58, 143-148.

8. C. Kansaana, E. O. Darko, C. Schandorf, O. K. Adukpo, A. Faanu, H. Lawluvi, D. O.Kpeglo . Determination of Natural Radioactivity in Saline Water and Salt from Panbros Salt Industry Limited in the Accra Metropolis, Ghana. International Journal of Science and Technology Volume 2 No.3, March 2012.

9. Abojassim, A.A., L.A. Al-Alasadi, A.R. Shitake, F.A. Al-Tememie and A.A. Husain, 2015. Assessment of annual effective dose for natural radioactivity of gamma emitters in biscuit samples in Iraq. J. Food Prot., 78: 1766-1769.

10. Nasim A., Sabiha J. and Tufail M. (2012), Enhancement of natural radioactivity in fertilized soil of Faisalabad, Pakistan, Environ SciPollut Res, 19, pp. 3327–3338.

11. Maduar M. and.Junior P. (2007), Gamma Spectrometry In the Determination of Radionuclides Comprised In Radioactivity Series, International Nuclear Atlantic Conference-INC, Santos SP, Brazil.

12. Al-Hamidawi, A.A.A., 2014. Assessment of radiation hazard indices and excess life time cancer risk due to dust storm for Al-Najaf, Iraq. WSEAS Tran. Environ. Dev., 10: 312-319.

13. , Muhammad Anees, Shahid Manzoor, Abdul Waheed and Aneela Tubassam, Study of natural radioactivity in Mansehra granite, Pakistan: environmental concerns, Radiation Protection Dosimetry, 158(4), 466–478, doi:10.1093/rpd/nct271 (2014).

14. Ali Abid Abojassim, (2015), Study of Norm and Some Radiological Parameters in Instant Noodles Sold in Iraq, World Applied Sciences Journal 33 (6): 974-979,

15. Fares S., Yassene A.M, Ashour A., Abu-Assy M. K., Natural radioactivity and the resulting radiation doses in some kinds of commercially marble collected from different quarries and factories in Egypt, Natural Science, 3(10), 895-905, 2011.

16. Orgun, Y., Altmsoy. N., Shin. S.Y., Gungor, Y., Gultekin, A.H., Karahan, G. and Karacik, Z., "Natural and Anthropogenic Radionuclides in Rocks and Beach Sands fromEzine Region (Canakkale), Western Anatolia, Turkey", Applied Radiation and Isotopes, 65, 739-747, 2007.

17. Johnston, J. (1996). Projects in Ghana: International Development Research Center; Iodine Deficiency Disorder, Ghana.

18. International Commission on Radiological Protection (ICRP),Age - dependent doses to members of the public from intake of radionuclides. Part5: Compilation of ingestion and inhalation coefficients ICR Publication72 , Oxford, 1996.

19. IAEA (1996) International Atomic Energy Agency, International Basic Safety Standard for Protection against Ionizing Radiation and for the Safety of Radiation Sources. Series No. 115, International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna.

20. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR), 2000. Sources and Effects of Ionizing Radiation (Report to the General Assembly). United Nation, New York.

21. Organization for economic cooperation and Development (OECD). Exposure to radiation from the natural radioactivity in building materials. Report by a group experts of the OECD nuclear energy agency, Paris, France; May, 1979.

22. ICRP, (1995). International Commission on Radiological Protection (ICRP), Age-dependent Doses to the Members of the Public from Intake of Radionuclides - Part 5 Compilation of Ingestion and Inhalation Coefficients. ICRP Publication 72.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КЛЕЕВОЙ РЕЗНОЙ ПАСТИЛЫ, ОБОГАЩЕННОЙ ОРГАНИЧЕСКИМ ЙОДОМ

Гюлниса Аббасбейли, Элза Омарова, Ильхама Кязымова, Марьям Мамедалиева

Азербайджанский Государственный экономический университет, г.Баку, Республика Азербайджан

Аннотация. Были разработаны 3 рецептуры пастилы на агаре для различных половозрастных категорий населения. Рассчитанные для каждой рецептуры нормы закладки «Йодказеина» составили соответственно (мг/кг продукта): 19,5; 64,9; 15,6. Исследования органолептических и физико-химических показателей готовой пастилы проводились по стандартизированным методикам. Содержание йода во всех образцах пастилы соответствовало расчетным значениям, потери добавки при производстве не были отмечены. В двух экземплярах пастилы «Ванильная – Йод+» и «Детская – Йод+» содержалось около 50 % рекомендуемой суточной нормы потребления йода. Содержание йода в двух экземплярах пастилы «Ванильная – Йод+ (форте)» составляло около суточной нормы его потребления для беременных и кормящих женщин. Пастила, обогащенная «Йодказеином», является продуктом, который можно рекомендовать для профилактики йоддефицитных состояний.

***Ключевые слова**:* Йод, добавка «Йодказеин», обогащенная пастила, норма потребления, показатели качества.

Введение. Алиментарный дефицит йода возникает при недостатке этого микроэлемента в пище и воде и приводит к гипофункции щитовидной железы. В организме человека йод присутствует в небольшом количестве (15–20 мг). Недостаток йода нарушает образование гормонов щитовидной железы – тироксина и трийодтиронина, что приводит у взрослых к возникновению

диффузного эутиреоидного и узлового зоба, а у детей – к нарушению интеллектуального развития, в ряде случаев – к кретинизму [1]. Наряду с железом, кальцием и магнием, йод относится к микронутриентам, рекомендованным для обогащения кондитерских изделий [2]. Поскольку ранее «Йодказеин» применялся только в технологии хлебобулочных и молочных товаров, использование этой добавки для обогащения пастильных кондитерских изделий можно считать актуальным инновационным подходом.

Материалы и методы исследования. Целью исследования явилось оценка качества клеевой резной пастилы, обогащенной «Йод-казеином», предназначенной для различных половозрастных категорий населения активная добавка «Йодказеин» и опытные образцы обогащенной пастилы на агаре. Предполагалось разработать 3 наименования пастилы: «Ванильная-Йод+», «Ванильная-Йод+ (форте)» и «Детская-Йод+». Для сравнения использовали контрольный образец пастилы (без добавки). Оценку «Йодказеина» проводили на основе удостоверения качества и безопасности, выданного изготовителем на соответствующую партию. По внешнему виду добавка представляла собой аморфный порошок желто-коричневого цвета. Согласно указанному документу, дальнейшие расчеты производили исходя из заявленной массы общего йода, равной 7,7 %.

Показатели качества обогащенной пастилы определялись следующими методами:

- массовая доля влаги – термогравиметрическим экспресс-методом по стандарту с помощью влагомера МА-30 фирмы Sartorius (Германия), действие которого основано на инфракрасном высушивании (температура измерения (100±2) °С);

- общая кислотность – визуальным титрованием раствора навески образцов 0,1 н. раствором NaOH по стандарту;

- массовая доля редуцирующих веществ – феррицианидным методом с непосредственным внесением взятой навески в раствор феррицианида $K_3[Fe(CN)_6]$ по стандарту;

- содержание йода в обогащенных изделиях – на анализаторе ТА-2 [3].

Результаты и обсуждение. Результаты органолептической оценки качества образцов пастилы представлены в табл. 1.

Таблица 1. Органолептические показатели качества образцов обогащенной пастилы

Показатель	Норма	Характеристика показателей пастилы			
		Кон-троль	«Ваниль-ная-Йод+»	«Ваниль-ная-Йод+ (форте)»	«Детская-Йод+»
1	2	3			
Цвет	Свойственный данному наименованию изделия, равномерный	Светло-кремовый, равномерный			
Вкус и запах	Свойственные данному наименованию изделия, с учетом вкусовых добавок, без постороннего привкуса и запаха. Не допускается резкий вкус и запах приме-няемых эссенций	Приятный кисло-сладкий вкус, без посторонних привкусов, с запахом ванильного ароматизатора корицы			
Консистенция	Мягкая, легко поддающаяся разламыванию	Мягкая, легко поддающаяся разламыванию			

Продовження табл. 1

1	2	3
Структура	Свойственная данному наименованию изделия, равномерная, мелкопористая	Равномерная, мелкопористая. У отдельных экземпляров отмечена неравномерная пористость у поверхности и в центре изделий
Форма	Свойственная данному наиме нованию изделия	По рецептурам: брусочки правильной формы, с четкими гранями размером 70×21×20 мм
Поверхность	Свойственная данному наиме нованию, без грубого затвер-девания на боковых гранях и выделения сиропа	По рецептурам: обсыпанная сахарной пудрой, без затвердевания и выделения сиропа

Из данных табл. 1 следует, что введение добавки «Йодказеина» в расчетной концентрации сколько-нибудь не повлияло на органолептические показатели качества образцов пастилы. Все образцы соответствовали требованиям стандарта. Неравномерная пористость, отмеченная у отдельных образцов пастилы, является обесценивающим, но не критическим дефектом, возникающим при сушке.

Результаты оценки качества образцов пастилы представлены в табл. 2.

Данные табл. 2 выявляют соответствие фактических значений показателей образцов обогащенной пастилы требованиям стандарта. Показано отсутствие влияния добавки «Йодказеина» на влажность, кислотность, плотность и массовую долю редуцирующих веществ. Пониженная кислотность в образцах пастилы «Ванильная-Йод+ (форте)» и «Детская-Йод+» обусловлена снижением дозировки молочной кислоты и введением аскорбиновой кислоты, которая, несмотря на кислый вкус, несколько подщелачивает среду.

Таблица 2. Органолептические показатели качества образцов обогащенной пастилы

Показатель	Норма	Характеристика показателей пастилы			
		Контроль	«Ваниль-ная-Йод+»	«Ваниль-ная-Йод+ (форте)»	«Детская-Йод+»
Массовая доля влаги, %	В соответствии с рецептурой 15,0 (+3,0; -1,0)	16,1±0,8	16,8±1,0	16,6±0,8	16,2±0,5
Общая кислотность, град.**	Не менее 5,0	11,6±0,3	11,8±0,3	9,1±0,3	7,0±0,3
Плотность, г/см^3	Не более 0,7	0,64±0,05	0,63±0,03	0,64±0,05	0,62±0,03
Массовая доля редуцирующих веществ, %**	7,0-14,0	10,3±0,3	10,1±0,5	10,1±0,6	9,7±0,3
Показатели, не регламентированные стандарту					
Содержание йода, мг/100 г	-	Не обнару-жено	0,14±0,02	0,47±0,04	0,12±0,01
Содержание аскорбиновой кислоты, мг/100 г	-	Не обнару-жено	Не определя-лось	191,4±19,7	196,9±22,0

Как предполагалось по расчету, содержание йода в 50 г (2 экземплярах) пастилы «Ванильная-Йод+» составило в среднем около 50 % от рекомендуемой суточной нормы для взрослых (0,15 мг). Содержание йода в двух экземплярах пастилы «Ванильная-Йод+ (форте)» составляло около суточной нормы его потребления для беременных и кормящих женщин. Потерь йода в процессе производства не отмечалось. При оценке качества также установлено отсутствие влияния «Йодказеина» на сохранность аскорбиновой кислоты в процессе производства пастилы. При норме закладки аскорбиновой кислоты в рецептуры пастилы «Ванильная-Йод+ (форте)» и «Детская-Йод+» в количестве 3 г/кг (300 мг/100 г) на момент изготовления содержание ее составило

соответственно в среднем 191,4 мг/100 г и 196,9 мг/100 г. В итоге потери составили в среднем 36,2–34,4 %.

Учитывая высокую лабильность данного микронутриента под влиянием различных факторов в процессе производства и хранения готовых изделий, а также предельно допустимую суточную норму на уровне 1200 мг [4], изготовителям пастильных изделий, обогащенных «Йодказеином» и аскорбиновой кислотой, рекомендовано установить норму закладки последней в пределах 3,0–6,0 г/кг.

Дозировка аскорбиновой кислоты будет пропорциональна заявленному сроку годности пастилы.

Выводы. Результаты исследований показывают, что йод в составе биологически активной добавки «Йодказеин» является химически устойчивым функциональным ингредиентом, не изменяющим показатели качества пастильной массы. В рассчитанных концентрациях введение в рецептуры пастилы «Йодказеина» как самостоятельной обогащающей добавки, так и в комплексе с аскорбиновой кислотой может служить эффективным приемом профилактики йоддефицитных состояний.

Список литературы

1. Гигиенические аспекты питания и здоровья сельского населения: монография / Ю.В. Ерофеев, М.С. Болдырева, Д.В. Турчанинов, Е.А. Вильмс; под общ. ред. И.А. Сохошко. – Омск: Изд-во ОмГМА, 2006. – 336 с.

2. Спиричев, В.Б. Обогащение пищевых продуктов микронутриентами: научные принципы и практические решения / В.Б. Спиричев, Л.Н. Шатнюк // Пищевая промышленность. – 2010. – № 4. – С. 20–24.

3. Методические указания. Методика выполнения измерений содержания йода в пищевых продуктах, продовольственном сырье, кормах и продуктах их переработки, лекарственных препаратах, витаминах, БАДах, биологических объектах методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторах типа ТА. – Томск, 2004. – 15 с.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И РЕЦЕПТУРЫ САХАРНОГО ПЕЧЕНЬЯ С ДОБАВЛЕНИЕМ ПОРОШКА ТОПИНАМБУРА И СОЛОДКИ

Гюлниса Аббасбейли, Элза Омарова, Ильхама Кязымова,
Гюнаш Насруллаева, Саяра Магеррамова
Азербайджанский Государственный Экономический Университет,
г. Баку, Азербайджан

Аннотация. Порошки из корней местной солодки и клубней топинамбура, которые произрастают в условиях Азербайджана, было одновременно пригодны в качестве подсластителя и обогатителя пищевыми волокнами, для получения продуктов функциональной направленности.

Ключевые слова: топинамбур, влажность, целлофановые пакеты, отсадное печенье.

Введение. Цель настоящих исследований изучение возможностей использования порошка топинамбура взамен части муки и порошка солодки взамен сахарозы в рецептурах традиционных видов сдобных песочно-отсадных видов и сдобного печенья «овсяное», приготовленных по рецептуре и технологии приготовления согласно. Во всех образцах были использованы экстракт из 1%-ного порошка солодки.

Материалы и методы исследование. По результатам пробных дегустации нами были разработаны рецептуры трех видов печенья с добавлением порошка топинамбура и порошка из корней солодки в виде экстракта в следующем количестве:

- 10 % порошка из топинамбура – образец 1;
- 15 % порошка из топинамбура – образец 2;
- 20 % порошка из топинамбура – образец 3;

Печенье выпекали по традиционной технологии. Все виды свежевыработанного печенья охлаждали, упаковывали в целлофановые пакеты

и закладывали на хранение при температуре 19±2 ºС, относительной влажности воздуха не более 75 % и при отсутствии доступа солнечных лучей. Исследования печенья проводили на основании требований ГОСТ 24901 в свежевыработанных продуктах и по окончания срока хранения (таблица 1). Согласно известных методов [3].

Таблица 1. Результаты органолептической оценки (балл) печенья с порошком топинамбура и экстрактом солодки

Образец печенья	Форма	Поверхность	Запах	Вкус	Цвет	Вид в изломе	Сумма баллов
Свежевыработанные							
1	2,6±0,3	2,4±0,3	4,6±0,4	4.4±0,1	4,4±0,2	4,6±0,2	23
2	2,8±0,1	2,8±0,1	5	4,8±0,2	4,6±0,2	5	25
3	2,6±0,2	2,3±0,3	4,9±0,1	4,3±0,3	4,6±0,2	4,8±0,2	23,5
По окончании срока хранения							
1	2,6±0,4	2,4±0,3	4,5±0,3	4,3±0,1	4,4±0,2	4,6±0,2	22,8
2	2,8±0,2	2,8±0,1	4,6±0,2	4,4±0,3	4,6±0,2	5	24,2
3	2,6±0,2	2,3±0,3	4,4±0,3	4±0,2	4,6±0,2	4,6±0,3	22,5

Согласно ГОСТ 24901 сроки хранения печенья зависит от его вида и содержания в нем жира: печенье сдобное с содержанием жира от 10 до 20 % - 30 сут, печенье сдобное с содержанием жира с выше 20% - 15 сут [1, 2 и 4]. Содержание жира в печенье с добавлением порошка топинамбура составляло 15,9 %, поэтому его хранили в течение 30 сут и исследовали через 15 и 30 сут. Содержание жира в печенье с добавлением 20 % порошка топинамбура и в печенье с добавлением 10 % порошка топинамбура составляло по 34,3 %, поэтому эти виды печенья хранили 15 сут и исследовали через 7 и 15 сут.

По результатам дегустации, наибольшую сумму баллов получило печенье с 15 % порошком топинамбура (25 баллов). В нем были высоко оценены показатели: форма (2,8), запах (5), вкус (4,8) и вид в изломе (5).

Форма отсадного печенья была овальной для всех образцов, поэтому этот показатель качества был оценен достаточно высоко (2,6-2,8). Поверхность всех видов печенья была без вздутий, лопнувших пузырей, не подгорелой, однако, наиболее гладкой была поверхность печенья с добавлением 20 % порошка топинамбура, на поверхности двух других образцов была отмечена легкая бугристость. Наиболее гармоничный запах был отмечен дегустаторами у печенья с добавлением 15 % порошка топинамбура и у печенья с добавлением порошка топинамбура в количестве 10 %. Показатель «цвет» был оценен достаточно высоко (4,4-4,6), при этом печенье с добавлением 20 % порошка и печенье с добавлением 10 % порошка были оценены выше (по 4,6), чем печенье с добавлением 15 % порошка из топинамбура (4,4). При анализе образцов печенья по показателю «вид в изломе» было отмечено, что все виды печенья были хорошо пропеченные, без следов непромеса, в изломе печенья с 20 %-м порошком отмечались единичные пустоты (4,8), в изломе печенья с 10 %-м порошком – слегка неравномерная пористость (4,6). В целом следует отметить, что все образцы печенья получили достаточно высокие оценки дегустаторов.

По окончании срока хранения большинство показателей не претерпело изменений, поскольку соблюдались условия хранения. В печенье с добавлением 20 % порошка топинамбура было отмечено начало черствения, обуславливающее уменьшение пористости. По-видимому 20 % порошок по сравнению с 10 %-м порошком обладает меньшей влагоудерживающей способностью. Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что печенье с добавлением порошка топинамбура хорошо сохранялось в течение всех сроков хранения установленных ГОСТ 24901.

Для всесторонней оценки качества печенья проводили исследование их физико-химических показателей качества (таблица 2).

Таблица 2. Физико-химические показатели качества печенья

Показатель	Требования ГОСТ 24901	Печенье с добавлением порошка топинамбура, %		
		10	15	20
Свежевыработанные продукты				
Содержание влаги, %	Не более 15,5	3,8	6,2	4,7
Содержание, % на СВ: сахарозы жира	 Не менее 12 Не менее 2,3	 12,4 32,1	 37,7 15,2	 12,7 32
Щелочность, град.	Не более 2	1,58	1,20	1,42
Содержание золы, не растворимой в 10 %-м растворе соляной кислоты, %	Не более 0,1	0,05	0,06	0,04
Намокаемость, %	Не менее 110	125	122	118
По окончании срока хранения				
Содержание влаги, %	Не более 15,5	3,6	5,5	4,1
Содержание, % на СВ: сахарозы жира	 Не менее 12 Не менее 2,3	 12,3 32,1	 37,4 15,2	 12,6 32
Щелочность, град.	Не более 2	1,57	1,16	1,4
Содержание золы, не растворимой в 10 %-м растворе соляной кислоты, %	Не более 0,1	0,05	0,06	0,04
Намокаемость, %	Не менее 110	122	118	110

Содержание влаги в исследуемых образцах печенья за период хранения снизилось на 5,2-12,7 %. Полученные результаты согласуются с результатами исследований изменения содержания влаги мучных кондитерских изделий в процессе хранения, которые составляли 5-12 % [5, 6]. Лучше всего сохранялось печенье с добавлением 10 % порошка из топинамбура вследствие способности

зерен крахмала образовывать между собой конгломераты с закрепленным на их поверхности белком, что препятствует выделению влаги из изделий.

Результаты и обсуждение. Снижение намокаемости печенья с добавлением 10 % порошка восставило 2,4 %, печенья с добавлением 15 % порошка – 3,3 %, печенья с добавлением 20 % порошка – 6,7 %. Причем по истечении 15 сут хранения печенья с добавлением 10 % порошка топинамбура показатель намокаемости составил 110 %, что соответствует нижнему допустимому пределу по ГОСТ 24901.

Содержание золы не растворимой в 10 %-м растворе соляной кислоты, во всех образцах печенья не превышало установленных по ГОСТ 24901 норм и в процессе хранения не изменилось, поскольку продукты хранились в герметично упакованных целлофановых пакетах без контакта с какими-либо металлосодержащими веществами или упаковками.

Содержание жира в процессе хранения всех трех видов печенья также не изменилось, чему способствовали герметичная упаковка и хранение изделий в картонных коробах без доступа света. Полученные результаты согласуются с результатами органолептических исследований, поскольку ни один из дегустаторов не отметил по окончании срока хранения появления салистого привкуса и прогорклого запаха, характерных при гидролитических и окислительных процессах порчи жира.

Незначительное снижение щелочности печенья с добавлением порошка топинамбура (до 3,5 %) может быть связано с разложением щелочных веществ, входящих в состав печенья, а также вследствие погрешности (0,3-1,4 %) определений щелочности печенья с добавлением 10 % и 20 % порошка топинамбура.

В процессе хранения печенья температура не повышалась, поэтому на протяжении всего срока хранения во всех образцах печенья не происходило уменьшения содержания сахарозы и ее количество во всех изделиях не выходило за пределы допустимых значений погрешности измерений ±1 %.

Исследования изменений физико-химических показателей качества печенья подтвердили их сохраняемость в течение сроков, установленных ГОСТ 24901.

Выводы. Анализируя данные из таблицы 2 можно сделать вывод о незначительном увеличении показателя намокаемости трех видов печенье с топинамбуром. Так, показатель намокаемости в них составил 125, 122 и 118 % соответственно, что соответствует нижнему допустимому пределу по ГОСТ 24901.

Причем содержание золы в образцах также не превышает установленных норм по этому ГОСТУ (не более 1 %). Другие определенные показатели также соответствовали требованием стандарта.

Показано, что наилучшие результаты были получены при добавлении в тестовые полуфабрикаты порошка топинамбура в количестве 15 % к массе муки, с введением экстракта солодки.

На основе проведенных исследований разработаны рецептуры и изучены органолептические и физико-химические показатели печенье с различным содержанием порошка топинамбура и экстрактом солодки в зависимости от срока хранения.

Разработанные новые виды печенье с различным содержанием порошка из топинамбура с введением экстракта солодки были рекомендованы для включения в ассортимент продуктов общественного питания и кондитерской промышленности для спецконтингентов.

Список литературы

1. Антонов Л.П. Сборник рецептур на торты, пирожные, кексы, рулеты, печенье, пряники, коврижки и сдобные булочные изделия / Л.П. Антонов. – М.: Хлебпродинформ, 2000. – 721 с.

2. Апет Т.К. Справочник технолога кондитерского производства. Технология и рецептуры / Т.К. Апет, З.Н. Пашук. – С.-Пб.: ГИОРД, 2004. – Т.1,– 560 с.

3. Кафка Б.В. Технохимический контроль кондитерского производства (Б.В.Кафка, Лурье И.С. – М. Пищ.пром-ть, 1967, 282 с

4. Корячкина С.Я. Новые виды мучных и кондитерских изделий / С.Я. Корячкина. – Орел: Труд, 2001. – 212 с.

5. Красина И.Б. Теоретическое и экспериментальное обоснование создания диабетических мучных кондитерских изделий с применением биологически активных добавок: автореф. дис. доктора техн. наук: 05.18.15: защищена 16.09.08 / Красина Ирина Борисовна – Краснодар: КубГТУ, 2008. – 53 с.

6. Фитерер И.В. Разработка рецептурно-технологических аспектов нового ассортимента мучных кондитерских изделий: автореф. дис. канд. техн. наук: 05.18.01 / Фитерер Игорь Владимирович. – Орел, 2006. – 22 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ ХЛЕБА ИЗ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ С ДОБАВЛЕНИЕМ КУКУРУЗНОЙ МУКИ

Валентина Бантя-Загаряну, Сильвия Рубцов

Технический Университет Молдовы, г. Кишинев, Молдова

Аннотация. В работе рассмотрена возможность использования кукурузной муки при приготовлении хлеба из пшеничной муки высшего сорта. Приведены результаты микробиологического анализа пробной выпечки с добавлением кукурузной муки.

***Ключевые слова*:** пшеничная мука, кукурузная мука, микробиологический анализ, хлеб.

Введение. Хлебобулочные изделия являются важнейшими продуктами питания человека, качество которых связано с составом и свойствами компонентов, которые входят в их состав, а также процессами, протекающими при выпечке и хранении готовых изделий. При производстве хлеба качество муки и состав ее микроорганизмов имеют большое значение для технологического процесса и отражаются на качестве готового хлеба. Присутствие в сырье и готовой продукции спор плесневых грибов и возбудителей картофельной болезни вызывает негативные микробиологические процессы, приводящие к ухудшению качества продукции. Стадиями повышенного риска можно считать охлаждение, транспортирование, хранение и реализацию готового хлеба [1, 5].

В соответствии с требованиями современной технологии хлебобулочных изделий, необходимо использовать компоненты, обладающие полифункциональными свойствами, т.е. обеспечивающими в комплексе не только улучшение потребительских свойств, повышение пищевой ценности, а и микробиологическую чистоту готовых изделий [4].

Кукурузная мука являются достаточно распространенным и доступным источником основных пищевых веществ, поэтому в настоящее время широко используются при моделировании рецептур пищевых продуктов профилактического назначения.

В отличие от пшеничной муки, кукурузная мука является безглютеновой, что имеет определенное значение для сторонников здорового питания и значение для носителей такого наследственного заболевания, как целиакия [7].

Кукурузная мука содержит кальций, магний, калий, железо, витамины группы В. Богата крахмалом, довольно легко усваивается организмом. Клетчатка содержится в большем или меньшем количестве, в зависимости от очистки муки.

В последние годы все большим спросом пользуются хлебобулочные изделия с добавлением кукурузной муки [4]. Кукурузный хлеб имеет массу преимуществ перед пшеничным: быстро и надолго насыщает; длительное время не портится; содержит большое количество растительных белков. Сегодня этот продукт рекомендован к употреблению при тяжелых физических нагрузках и занятиях спортом.

Материалы и методы исследования. В результате пробной выпечки был предложен хлеб, приготовленный безопарным способом, с использованием пшеничной муки высшего сорта с добавлением кукурузной муки (18 %). Содержание в рецептуре дрожжей 3 % и соли 1,5 %.

Для проведения микробиологического анализа использовали метод посева на твердые питательные среды - МПА и Sabouraud. После термостатирования образцов был проведен качественный и количественный анализ посевов [3].

Результаты и обсуждения. Микробиологический контроль образца хлеба с добавлением кукурузной муки был проведен пробной выпечки. Чтобы оценить степень загрязнения споровыми бактериями хлеба из пшеничной муки с добавлением кукурузной муки, был взят образец хлеба (пробная выпечка), с

соблюдением производственных факторов, который термостатировали в течение 3-х дней при температуре 37 °С, с суточным отслеживанием внешнего вида хлеба и изменениями в мякише. После 24 часов не было никаких существенных изменений. Но после 48 часов термостатирования внешний вид хлеба и консистенция мякиша хлеба быстро ухудшились. Мякиш хлеба липкий, потерял свою пористую структуру и приобрел характерный запах дыни. Поверхность хлеба покрыта полностью плесенью.

Для микробиологического анализа образец больного хлеба внесли, как качественный тест, в чашки Петри на питательные среды МПА и Sabouraud.

Для исследования были отобраны следующие пробные образцы:

I - плесень с поверхности хлеба - белая;

II - желтая плесень;

III - черная плесень;

IV - мякиш больного хлеба.

Все чашки Петри были термостатированы с крышкой вниз при температуре 37 °С в течение 48 часов, после был проведен качественный и количественный анализ посевов. Для микробиологического исследования микроорганизмов, развитых в хлебе, подготавливают фиксированные окрашенные мазки.

В образце I выявлены бактерии родов *Micrococcus*, *Pseudomonas* (рис. 1).

На питательной среде Sabouraud в образце I выявлены бактерии родов *Rhizopus Arrhizus*. Колония имеет пушистый и плотный внешний вид, белого цвета, который становится темным при зрелости. Спорангиеносцы неразветвленные и развиваются вдоль столонов. Чаще встречаются на растительных материалах - кукурузных кочанах, корнеплодных овощах и гнилых фруктах.

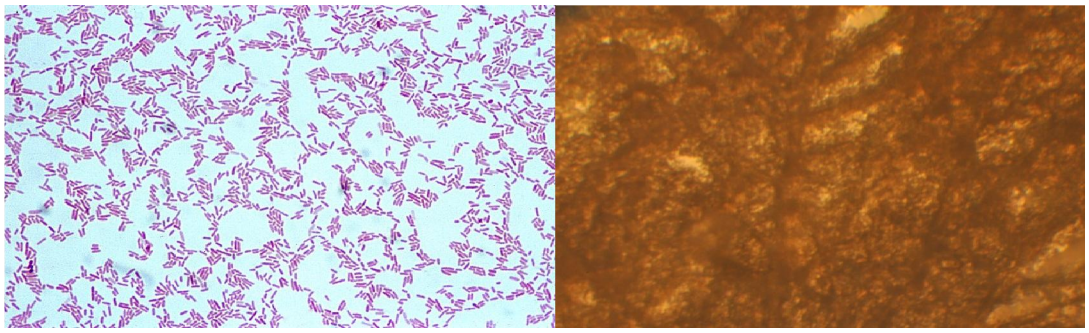


Рис. 1. Мицеллии *Micrococcus*, *Pseudomonas* развитые на поверхности контрольного образца хлеба, на питательной среде МПА (фотонная микроскопия).

Rhizopus Arrhizus является термофильным видом и может развиваться и при температурах выше 37 ºС. Микроскопические изображения мицелия *Rhizopus Arrhizus,* изолированного с поверхности контрольного образца хлеба представлены на рисунке 2.

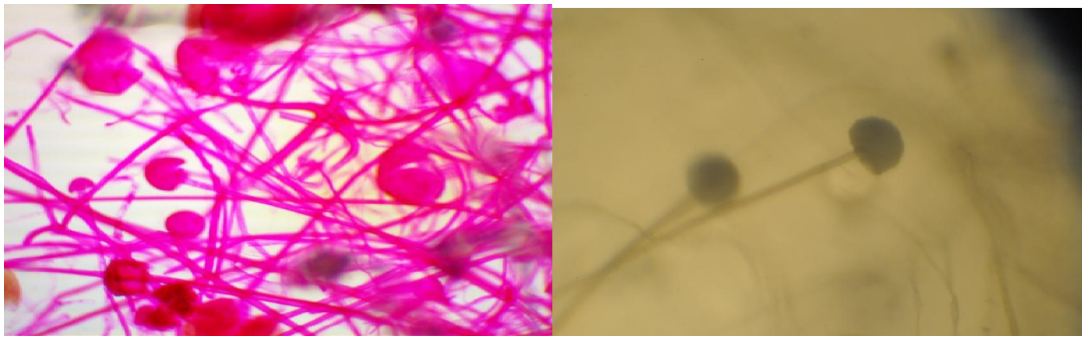


Рис. 2. Мицелий *Rhizopus Arrhizus* развитый на поверхности контрольного образца хлеба, на питательной среде Sabouraud (микроскопический вид).

Анализ желтой плесени (образец II) на питательной среде МПА (фотонная микроскопия) показал наличие *Fusarium graminearum*. Колония *Fusarium graminearum* имеет пушистый и плотный внешний вид и быстро развивается в чашке Петри. Этот вид плесени оптимально развивается при температуре 24-26 ºС и pH=6,7-7,2. *Fusarium graminearum* распространен в

природе и является фитопатогенном злаков, вызывает гниение пшеницы, кукурузы и производит микотоксины.

Анализ желтой плесени (образец II) на питательной среде Sabouraud выявил наличие *Rhizopus oryzae*. Анализ черной плесени (образец III) на питательной среде МПА показал наличие *Aspergillus niger*. Колония развивается быстро, имея шелковистый мицелий, белого или бело-желтоватого цвета. С формированием конидиоспор колония обретает гранулированный внешний вид и темно-коричневый или черный цвет. *Aspergillus niger* один из самых распространенных видов, встречаются в почве, гнилых растительных материалах (клубни, корни, семена, фрукты, злаки) и продуктах их переработки, складах, подвалах, производственных цехах.

Микробиологический анализ черной плесени (образец III) на питательной среде Sabouraud также показал наличие *Aspergillus niger* (рис. 3).

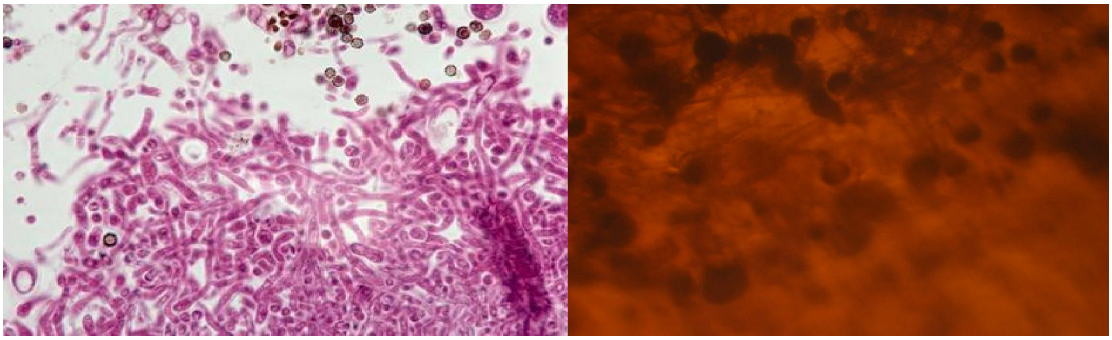
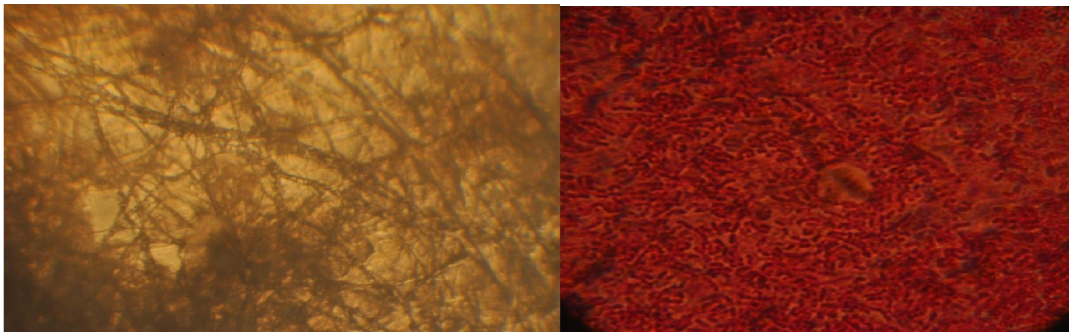


Рис. 3. *Aspergillus niger* развитый на поверхности контрольного образца хлеба, на питательной среде Sabouraud (микроскопический вид).

При микробиологическом анализе микроорганизмов мякиша больного хлеба (образец IV) на питательной среде МПА и Sabouraud выявляет *Bacillus mesentericus*. Мицелии *Bacillus mesentericus* представлены на рисунке 4.

Bacillus mesentericus это бактерия, которая присутствует в микрофлоре злаков. В неблагоприятных условиях окружающей среды (температура, влажность, pH) прорастает из вегетативной формы в спору. Если злаки и мука хранятся при высоких температурах и влажности, это способствует развитию

микроорганизмов, в процессе происходит самовозгорание, которое приводит к развитию *Bacillus mesentericus* в пределах выше нормы. Если концентрация спор превышает 1000 клеток/грамм появляется так называемая тягучая болезнь хлеба [5].



а) б)

Рис. 4. *Bacillus mesentericus* изолированный с поверхности контрольного образца хлеба с добавлением кукурузной муки на питательной среде а) МПА и б) Sabouraud (микроскопический вид).

Выводы и рекомендации. В результате получения экспериментальных результатов установлено, что кукурузная мука стимулирует микробиологические показатели качества выпеченных изделий, увеличивают риск возникновения заболевания хлеба.

В данной работе анализ хлеба показал знаки заражения после 48 часов инкубационного периода, которые свидетельствуют о второй степени заражения *Bacillus mesentericus*. Внешний вид и консистенция хлеба резко ухудшились, мякиш хлеба обрел запах дыни и испорченных фруктов, стал клейким, потемнел. Хлеб утерял пористую структуру, консистенция стала вязкой, появились пустоты в мякише. Поверхность хлеба была полностью покрыта плесенью белого, желтого и черного цвета.

Рекомендации. Для получения качественного продукта, который бы не представлял значительных признаков микробиологических заболеваний и оплесневения, нужно следовать следующим рекомендациям:

- Повышение температуры ошпаривания кукурузной муки от 40-50 ºС до 70-80 ºС;
- Хорошее промывание зерна пшеницы;
- Смешивание партий муки зараженной и незараженной в пропорциях 1:3;
- Использование качественной питьевой воды с микробиологическими показателями в соответствии с Постановлением Правительства 934 от 15.08.2007;
- Строгое соблюдение санитарно-гигиенических условий в производственных цехах, для оборудования, инвентаря, контейнеров, воздуха, транспортных средств, соблюдение личной гигиены персонала;
- Осуществление микробиологического контроля и качественной и количественной проверки сырья, полуфабрикатов и готового продукта;
- Проведение санитарно-гигиенических мероприятий в производственных цехах [6];
- Использование некоторых натуральных подкислителей в хлебобулочные изделия для понижения pH хлеба и повышения ее кислотности, с целью повышения сопротивления к микробиологическим заболеваниям [3].

Список литературы

1. *Аношкина, Г.*, Болезни хлебных изделий. Журнал Хлебопродукты № 7, 2001. с.24-26.
2. *Жарикова, Г.Г.* Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена М.: Academa, 2005. - 297 с.
3. *Лунин, В., Сосунов Д., Сосунова О., Дмитриева Ю*. Основные способы предотвращения микробиологической порчи мучных кондитерских и хлебобулочных изделий. - М.: Хлебопродукты, № 6, 2013. - 57 с.
4. Сборник современных технологий хлебобулочных изделий. - Под общ, ред. чл.-корр. РАСХН, д.э.н., проф. А.П. Косована. - М.: - РАСХН. - 2008.
5. *Романов, А. Н*. О черствении, усвояемости и плесневении хлеба. Хлебопекарная и кондитерская промышленность, № 12, 1987. - с. 22.
6. *Тилькунов, Н. А*. и др. Справочник по технике безопасности в хлебопекарной промышленности / – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984.
7. Целиакия у детей и подростков. Брошюра фирмы « Dr. Shar» (Италия).

БІОКОНВЕРСІЯ ПРОМИСЛОВИХ ВІДХОДІВ У ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНІ РЕЧОВИНИ NOCARDIAVACCINII IMB B-7405

Христина Берегова, Тетяна Пирог

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The possibility of replacing expensive substrates (ethanol, glucose, hexadecane) on industrial wastes (food industry, biodiesel production and fried oil) for *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 biosurfactants synthesis with high antimicrobial and antiadhesive activity was established. Minimum inhibitory concentrations of *N. vaccinii* IMV B-7405 biosurfactants against bacteria were 11,5–85,0 μ/ml. Treatment with the surfactants (0,005–0,02 mg/ml) medical and abiotic surfaces was accompanied by decreasing adhesion of bacteria by 35–75, yeast 80–85, and micromycetes 40–50 %.

Keywords: biosurfactants, *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, industrial waste.

Вступ. Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) завдяки унікальним фізико-хімічним і біологічним властивостям можуть використовуватися у різноманітних галузях промисловості, таких як харчова, медична, нафтовидобувна, а також у сільському господарстві та для очищення довкілля [1]. Одним з факторів, що стримує великомасштабне виробництво мікробних ПАР є їх висока собівартість. Разом з тим, проблемою сьогодення є утилізація значної кількості промислових відходів.

Зазначимо, що небезпечними є не тільки відходи, що містять токсичні речовини (наприклад, гліцеринова фракція – відхід виробництва біодизелю), але й відходи, що потрапляють у навколишнє середовище у неконтрольованій кількості, наприклад олієвмісні (відходи оліє-жирового виробництва, пересмажена олія після використання в закладах громадського харчування).

На кафедрі біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій селекціоновано штам-продуцент ПАР, ідентифікований як

Nocardia vaccinii К-8 [2]. Встановлено здатність *N.vaccinii* К-8 (IMB B-7405) синтезувати поверхнево-речовини на деяких гідрофобних і гідрофільних субстратах.

Зазначимо, що у літературі є лише поодинокі повідомлення про синтез ПАР представниками роду *Nocardia* і тільки на дорогих нетехнологічних гідрофобних субстратах (зокрема, *н*-гексадекані).

Мета даної роботи – дослідити можливість біосинтезу ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 на різноманітних промислових відходах і визначити біологічні властивості синтезованих ПАР.

Матеріали і методи дослідження. *N. vaccinii* IMB B-7405 вирощували у мінеральному середовищі, (г/л): $NaNO_3$ – 0,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,1; $CaCl_2 \times 2\ H_2O$– 0,1; KH_2PO_4 – 0,1; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,001, pH 6,8–7,0. У середовище культивування вносили дріжджовий автолізат – 0,5 % (об’ємна частка).

Як джерело вуглецю та енергії використовували моносубстрати: очищений гліцерин, етанол, мелясу, пересмажену соняшникову олію, молочну сироватку, олійний фуз (відходи від оліє-жирового виробництва), технічний гліцерин від Запорізького біопаливного заводу, а також змішані субстрати. Для модифікації середнього складу технічного гліцерину використовували «модифікований гліцерин»: до 2 % очищеного гліцерину добавляли солі NaCl, KCl (по 2,5 %), та етанол і метанол (по 0,3 % об’ємна частка). Посівний матеріал – культура з середини експоненційної фази росту. Концентрація посівного матеріалу (10^4–10^5 клітин/см^3) становила 10–20 % від об’єму середовища. Культивування здійснювали в колбах об'ємом 750 мл із 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) упродовж 24–240 год при 30°С.

Результати і обговорення. Одним із способів здешевлення технології одержання практично цінних метаболітів, у тому числі й ПАР, є використання відходів харчових виробництв [3].

Наші експерименти показали, що використання як джерел вуглецю для культивування *N. vaccinii* IMB B-7405 меляси, пересмаженої соняшникової олії

і фузів дало змогу підвищити умовну концентрацію ПАР у 2,8–3,6 разів порівняно з культивуванням штаму на очищеному гліцерині.

Виходячи з хімічної природи ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 (комплекс нейтральних, аміно- та гліколіпідів, основним компонентом яких є трегалозоміколати), ми припустили, що можна підвищити показники їх біосинтезу додаванням у середовище з пересмаженою соняшниковою олією глюкози, а в середовище з мелясою – олії. Дійсно, добавлення в середовище з соняшниковою олією 0,05–0,1 % глюкози, а в середовище з мелясою 0,05–0,1 % соняшникової олії супроводжувалось підвищенням показників синтезу ПАР у 1,3–2,8 разів.

У зв'язку з інтенсивним зростанням попиту на біодизель у світі виникає проблема утилізації побічного продукту – гліцерину, адже на кожні 100 л біодизелю утворюється майже 10 л технічного гліцерину (так звана гліцеринова фракція). Біодизель одержують переетерифікацією рослинних олій (тваринних жирів) з метанолом або етанолом (на 1 т масла витрачається близько 200 кг спирту) з використанням як каталізатора гідроксиду натрію або калію [4], тому технічний гліцерин містить не більше 60–80 % гліцерину, а також солі калію (натрію), залишки жирних кислот, спиртів і воду.

Основною проблемою на сьогоднішній день є отримання мікроорганізмів-продуцентів практично цінних метаболітів, стійких до потенційних інгібіторів, що містяться в гліцеринової фракції (метанол, натрієві і калієві солі) [4].

На першому етапі досліджували вплив складових технічного гліцерину на ріст і синтез ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405. Так, добавлення в середовище з очищеним гліцерином NaCl (1–4 %) і KCl (1–6 %) приводило до підвищення синтезу ПАР в 1,5–2 рази порівняно з показниками на середовищі без солей.

Наступні експерименти показали можливість використання модифікованого гліцерину як субстрату для одержання ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405. Культивування *N. vaccinii* IMB B-7405 на такому модифікованому

гліцерині (за присутності одночасно спиртів і хлоридів натрію чи калію) супроводжувалося збільшенням умовної концентрації ПАР на 44–68 % порівняно з показниками на середовищі без них.

У ході подальших експериментів встановлено, що *N. vaccinii* IMB B-7405 росте і синтезує ПАР не тільки на модифікованій гліцериновій фракції, а й на технічному гліцерині, при цьому умовна концентрації ПАР на технічному гліцерині була в 1,7 та 3 рази вищою, ніж на модифікованому та очищеному відповідно.

Упродовж року у світі накопичується приблизно 6 млн т технічного гліцерину, а використовується лише 3 млн т [5], тому для ефективного використання такого відходу як субстрату у біотехнології кількість його у середовищі культивування продуцентів практично цінних метаболітів повинна бути якомога вищою.

Максимальну кількість ПАР (4,2 г/л) штам *N. vaccinii* IMB B-7405 синтезував за використання 4 % технічного гліцерину. У разі збільшення концентрації субстрату у середовищі до 5–6 % кількість ПАР знижувалась до 2,9–3,8 г/л.

Підвищення тривалості процесу культивування продуцента з 120 до 168 та 240 год не супроводжувалося підвищенням показників синтезу ПАР на середовищі з високою концентрацією технічного гліцерину.

Одними з факторів, що визначають ефективність біотехнології, є спосіб підготовки посівного матеріалу, зокрема його концентрація, а також співвідношення C/N (для вторинних метаболітів). Зазначимо, що у попередніх дослідженнях при підвищенні концентрації технічного гліцерину у середовищі культивування штаму IMB B-7405 концентрацію азоту не змінювали.

Наступні експерименти показали, що збільшення концентрації інокуляту з 10 до 15 % і джерела азоту в два рази дало змогу реалізувати процес синтезу ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 на середовищі з концентрацією технічного гліцерину 8 % (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив концентрації джерела азоту в середовищі з технічним гліцерином на синтез ПАР N. vaccinii IMB B-7405

Концентрація гліцерину, %	Концентрація джерела азоту, г/л	Концентрація ПАР, г/л
6	0,5	2,9±0,14
	1,0	5,0±0,25
7	0,5	2,0±0,1
	1,0	5,0±0,25
8	0,5	1,8±0,09
	1,0	5,3±0,26

Примітка. Концентрація нітрату натрію у базовому середовищі становила 0,5 г/л.

Відомо, що культивування мікроорганізмів на суміші ростових субстратів дає змогу уникнути непродуктивних витрат вуглецю та енергії, які мають місце за використання моносубстратів, а також підвищити ефективність трансформації вуглецю субстратів у біомасу та інтенсифікувати синтез вторинних метаболітів [6]. Експерименти показали, що за умов росту *N. vaccinii* IMB B-7405 на суміші меляси з етанолом чи очищеним гліцерином, концентрація ПАР була у 1,3−2,7 разів вищою, ніж на відповідних моносубстратах.

Подальші дослідження показали можливість заміни очищеного гліцерину у змішаному субстраті на технічний. Експериментально підібрані концентрації меляси (1 %) і технічного гліцерину (8 %) у суміші, а також нітрату натрію (1 г/л) в середовищі культивування *N. vaccinii* IMB B-7405, за використання яких концентрація ПАР підвищувалася до 13 г/л (табл. 2).

Зазначимо, що у більшості робіт, присвячених синтезу ПАР використовується очищений гліцерин, а деякі біотехнології на основі технічного гліцерину виявилися нерентабельними, бо потребують попереднього його очищення [4, 5].

Таблиця 2. Концентрація ПАР N. vaccinii IMB B- 7405 за високого вмісту технічного гліцерину у середовищі культивування

Концентрація в суміші, %		ПАР, г/л
Технічного гліцерину	Меляси	
7,0	1,0	8,7±0,44
8,0	1,0	13,0±0,65
9,0	1,0	12,3±0,62

Завдяки значним перевагам перед синтетичними аналогами мікробні ПАР можуть бути альтернативою сучасним антибіотикам, оскільки нині особливо гостро стоїть питання про набуту резистентність мікроорганізмів до вже існуючих антибіотичних засобів.

На заключному етапі досліджували біологічні властивості поверхнево-активних речовин штаму IMB B-7405, синтезованих на промислових відходах. Встановлено, що за обробки ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 (0,005–0,02 мг/мл) кількість адгезованих клітин бактерій, дріжджів та мікроміцетів на лінолеумі, пластику, кахлі, сталі, не перевищувала 20–55%, а при обробці медичних поверхонь (акриловий матеріал та силіконовий базис зубних протезів та урогенітальні катетери) препаратами ПАР, адгезія грамнегативних бактерій та дріжджів становила всього 35–85 %.

Мінімальні інгібуючі концентрації поверхнево-активних речовин штаму IMB B-7405 щодо грампозитивних бактерій становили 11,5–85, грамнегативних − 45–85, дріжджів роду *Candida* − 11,5–22,5, а для мікроміцетів − 165–325 мкг/мл. Зазначимо, що мінімальна інгібуюча концентрація ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 щодо бактерій перебуває у межах, визначених для відомих з літератури мікробних ПАР.

Висновки. Таким чином, використання різних промислових відходів як субстратів для біосинтезу ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 дає змогу не тільки

утилізувати токсичні відходи і знизити собівартість ПАР, а й отримати препарати з високою антиадгезивною та антимікробною активністю.

Список літератури

1. *Gudiña E. J., Rodrigues A. I., Alves E.* Bioconversion of agro-industrial by-products in rhamnolipids toward applications in enhanced oil recovery and bioremediation // Bioresour. Technol. – 2015. – Vol. 177. – P. 87–93.

2. *Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Волошина И. Н.* Использование иммобилизованных на керамзите клеток нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки воды от нефти // Прикладная биохим. микробиол. – 2005. – Vol. 41, N 1. – P. 58–63.

3. *Sharma D., Ansari M. J., Gupta S.* Structural characterization and antimicrobial activity of a biosurfactant obtained from *Bacillus pumilus* dsvp18 grown on potato peels // Jundishapur J. Microbiol. – 2015. – doi: 10.5812/jjm.21257.

4. *Samul D., Leja K., Grajek W.* Impurities of crude glycerol and their effect on metabolite production // Ann. Microbiol. – 2014. □ doi 10.1007/s13213-013-0767-x.

5. *Yang F., Hanna M. A., Sun R.* Value-added uses for crude glycerol – a byproduct of biodiesel production // Biotechnol. Biofuels. – 2012. doi: 10.1186/1754-6834-5-13.

6. *Підгорський В. С. Іутинська Г. О., Пирог Т. П.* Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. – К.: Наук. думка, 2010. – 327 с.

PRODUCTION AND ANALYSIS OF BISCUITS FORTIFIED WITH EINKORN FLOUR

Gjore Nakov, Nastia Ivanova, Stanka Damyanova, Leonora Yordanova
Department of Biotechnology and Food Technologies, University of Ruse "Angel Kanchev", Branch Razgrad, Bulgaria

Tzonka Godjevrgova
Department of Biotechnology, University "Prof. Dr. Assen Zlatarov", Burgas, Bulgaria

Ljupka Necinova
Healthy Food by Zegin, DOO Zegin, Skopje Republic of Macedonia

Abstract. The biscuits are product consumed by different age groups. The objective of this paper is to present the results of biscuits produced from mix of two types of flour (white wheat and einkorn wheat flour) in a different ratio. For this purpose were prepared biscuits with 0, 30, 50, 70 and 100 % of einkorn wheat flour. Obtained parameters were moisture, minerals, and the color of biscuits.

Key words: biscuits, einkorn flour, wheat flour.

Introduction. The biscuits are one of the most frequently consumed bakery products. Nutritional value and long shelf life are among the reasons for their frequent use. Weight, size, moisture content and quality of the flour from which the biscuits are made of, are important during the production of biscuits [1].

The composition of the biscuits can vary depending on the daily needs of the product, as well as the functions carried out by the raw materials, which are usually flour, butter, sugar and other components that have moisture less than 4% and duration over 6 months. Next phase of production is baking which should provide [2]:

a) reducing the density of the biscuits and creating a porous structure;

b) good fragility;

c) a reduced amount of moisture;

d) change of color.

A major disadvantage is that among the user violates a balanced diet for the nutrients and energy value. To solve this problem in the confectionery industry are added the traditional local raw materials enriching finished products with a biological nutritional value [3].

The biscuits are usually prepared from flour of soft white flour. Comprehensive resource flour depends on the relationship between the chemical constituents of the flour and the quality of those ingredients or flour quality is determined by the quality of gluten and starch in it. From a technological aspect, the most important are the proteins that are contained in the flour, which are gliadin and gluten. These two proteins by adding water swelling and form gluten (glue), which gives the structure of the dough [4].

Einkorn wheat (*Triticum monococcum* L) is one of the oldest cereals suitable for organic agriculture. Compared to other cereals, Einkorn wheat is more resistant for diseases and may submit drier air. However, the yield on Einkorn wheat is significantly lower compared to the other varieties of wheat.

Einkorn wheat, and it's flour respectively, contain an enormous quantity of proteins, mineral substances and has a huge antioxidant capacity. Because of the weak gluten which this type of wheat the flour gives, it is used for production of biscuits, as well as other fortified products [5].

The objective of this paper is to show the different features of biscuits prepared by mixing the white wheat flour and einkorn.

Material and methods.

Production of biscuits:

Biscuits dough were prepared from two types: a commercial wheat flour T-500 (Topal Mel OOD, Bulgaria) and Einkorn. The other ingredients were shortening (Promienna (for baking 72 % fats)), dextrose, sugar (sucrose),

kitchen salt (sodium chloride) and sodium bicarbonate from a local market. The biscuits doughs were prepared by weighing the appropriate mass of each constituent in accordance with AACC Method 10-50D and mixing the ingredients using an electronic mixer (Philips 175W) with a flat beater. First sugar, salt, sodium bicarbonate and shortening were mixed at low speed for 3 min (scrape down after each minute), then distilled water and dextrose solution were added and mixed at low speed for 1 min, scraped down and mixed for 1 min at medium speed. Finally, the flour was added and mixed at low speed for 2 min, scraped down after each 30 s. After mixing biscuits dough rested in a refrigerator (up to 8 °C) for 30 min. Dough was flattened and rolled by a rolling pin to the desired thickness. At the end of the sample preparation process biscuits dough was cut with a cookie cutter and shaped biscuits were placed at the baking surface (cold baking pane covered with baking paper). Dough leftover was discarded. The temperature of the hot air inside the oven was maintained at 205 °C with the precision of ±1 °C [6].

Moisture analysis

Moisture analysis was preformed according to ISO 6540 after baking [7].

Determination of mineral substances

The determination of mineral substances - ash in the biscuits is made according to official ISO 5984:2002 standard [7].

Determination the color of the biscuits

The determination of color of the biscuits is made with the help of the CIE Lab system. In the system, the color coordinates are respectively:

L* - Illumination, L* = 0 - black color, L* = 100 white color;

s* - green color (-) / red color (+);

b* - blue color (-) / yellow color (+).

The colors in the CIE Lab system are presented in Figure 1.

The color of the flowers is defined with inkmeter (Lovibont Tintometer 100 Colour RT) by spectrophotometric way. All measurements are made in 5 different points of a biscuit and an average value is taken.

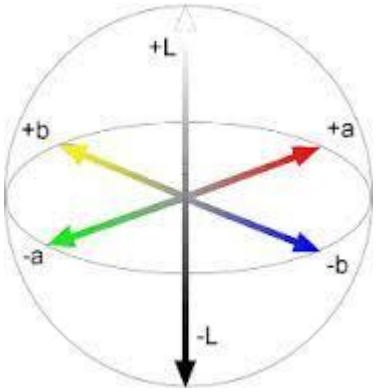


Fig. 1. Distribution of the colors in the CIE Lab system [8]

Results

Moisture

Water is the main ingredient of many food products. The percentage of water varies in grains, so white wheat flour has an average of 10.3 % / DM, while fortified cereal products have about 13.4 % / DM [9].

In Figure 2 are given the results of the quantity of water.

From the presented results can be seen that white flour has a 12.59 % moisture and einkorn flour has 12.96. Next in the biscuits production is determined the percentage of water (11.25%; 9.77 %; 9.59; 9.32 and 10.29 %) in the biscuits, prepared by 0%, 30 %, 50 %, 70 % and 100 % einkorn flour respectively.

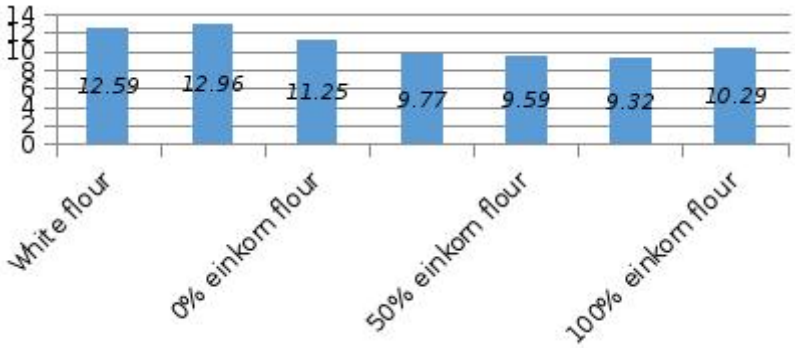


Fig. 2 Amount of water in the tested specimens

Ash, %

Ash represents the nonorganic residue that remains after the burning the sample and remainder of the full oxidation of organic substances in food. Mineral

matters for cereals on average are 1.1 %, wheat flour by 1.6 % [9]. In Figure 3 is shown the amount of ash among the examined biscuits and flour.

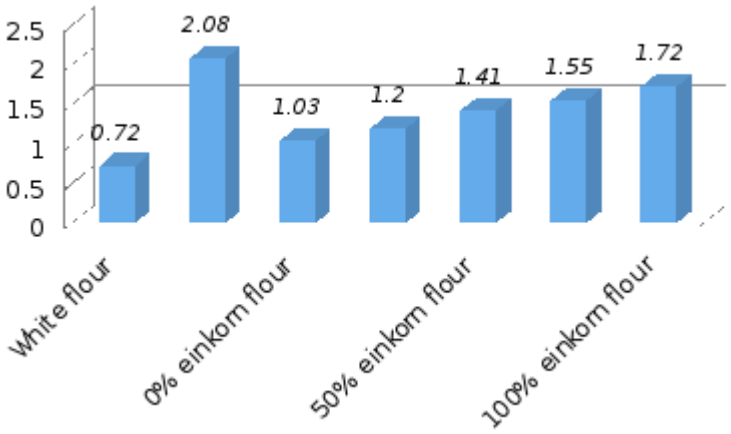


Fig. 3. Mineral substances of the tested samples

In Table 1 are presented the results from determination of the biscuits color, defined by CIE Lab system.

Table 1. Results of determination the color of biscuits

	L*	a*	b*
0 % Einkorn flour	63.05	8.73	31.96
30 % Einkorn flour	53.86	9.23	30.49
50 % Einkorn flour	46.71	8.75	27.91
70 % Einkorn flour	44.75	7.39	26.82
100 %Einkorn flour	42.77	7.97	25.89

From the conducted results was confirmed that by increasing the amount of einkorn flour in the biscuits the value of L* is reduced which means they have a brighter color. Regarding the value a*, with increasing the percentage of einkorn flour, value a* is reduced, which means that approaches to red color, while the value b* with an increasing proportion of einkorn flour value of b* is reduced, which means that color of the biscuits moves towards yellow.

Conclusion. From the made analysis, is determined that it is possible the biscuits to be fortified with einkorn flour. Regarding the amount of moisture, in the

biscuits it ranges from 10.29 % to 11.25 %. Mineral matters increases with increasing the percentage of einkorn flour.

References

1. Budžaki S., Koceva Komlenić D., Lukinac Čačić J., Čačić F., Jukić M., Kožul Ž. - Influence of cookies composition on temperature profiles and qualitative parameters during baking, Croat. J. Food Sci. Technol., (2014), 6 (2), 72-78.

2. Popov-Raljić V.J., J. S. Mastilović, J. G. Laličić-Petronijević, Ž. S. Kevrešan, M. A. Demin - Sensory and color properties of dietary cookies with different fiber sources during 180 days of storage, Hemijska industrija, (2013), 67 (1), 123-134.

3. Izembaeva K.A., Muldabekova Zh. B., Iztaev I.A., Zhienbaeva T.S. - The use of Composite Mixtures in the Production of Biscuits, Bulgarian Journal of Agricultural Science, (2013), 19 (No 1), 28-31.

4. Stamatovska V., Kalevska T., Menkinoska M., Nakov Gj., Uzunoska Z., Mitkova L. - Correlations between quality of flour T-500 characteristics and bread volume, Food and Environment Safety, Volume XV, (2016), Issue 1, 46 – 54.

5. Nakov Gj., Ivanova N., Damyanova S., Stamatovska V., Necinova Lj. - Nutritional properties of Einkorn Wheat (Triticum monococcum L) – Rreview, in press.

6. AACC Method 10-50D (2000a): Baking Quality of Cookie Flour. Approved Methods of the American Association of Cereal. Chemists, 10th ed. AACC, St. Paul.

7. ISO. The International Organization for Standardization.

8. Singh B., Parwate D. V., Shukla S. K. -Radiosterilization of Fluoroquinolones and Cephalosporins: Assessment of Radiation Damage on Antibiotics by Changes in Optical Property and Colorimetric Parameters. AAPS Pharm. Sci. Tech., (2009), Vol. 10, No 1.

9. S. Suzanne Nielsen – Food Analysis, Springer, Fourth edition.

МОЛОЗИВО – ОСНОВА ДЛЯ РОЗРОБКИ ІМУННОГО ХАРЧУВАННЯ

Ольга Бородіна, Інна Лич

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. Colostrum is a natural source of all necessary components for maintenance of active immunity and activation of the weakened immune system therefore it is a valuable product for creation of immune nutrition. Colostrum is rich in protective factors of immunity, such as interferon, antibodies (immunoglobulins), oligosaccharides, proteins, fats, carbohydrates, macro - and minerals, vitamins, etc. Besides, colostrum contains in 10-20 times more of antibodies IgG IgA, IgM, IgE, IgD than milk from which the principal value of a factor of protection has secretory immunoglobulin A (sIgA) which with the first hit in an organism begins to protect mucous membranes of the child and by that strengthens immunity.

Keywords: colostrum, protective factors of immunity, antibody, immune nutrition.

Вступ. Молозиво – це складна біологічна рідина з високою поживною та енергетичною цінністю, з вмістом біологічно активних та захисних чинників, що забезпечує надійне пристосування новонародженої дитини до умов оточуючого середовища та захист від цілої низки інфекцій. Молозиво виділяється молочними залозами ссавців в кінці вагітності і в перші 2-3 доби після пологів. У його складі наявні:

- імуноглобуліни різних класів – IgA, IgG, IgD, IgE, IgM, з них 90 % припадає на частку IgA, каталітично активні антитіла – абзими;
- цитокіни, що забезпечують міжклітинну взаємодію в імунній системі (наприклад, інтерферон);
- фактори росту (епітеліальний, інсуліноподібний, тромбоцитарний), які стимулюють ріст різних тканин;

- лактоферин – перешкоджає розмноженню мікроорганізмів [1], посилює фагоцитоз і ефективність цитокінів;
- фактори неспецифічного імунітету (лізоцим);
- амінокислоти (пролін – важливий для регуляторних пептидів імунної системи, таурин – необхідний для розвитку головного мозку);
- білки, жири, вуглеводи, вітаміни (А, β-каротин, Е, B_{12}, D), мінерали та інші речовини.

При споживанні молозива в організмі формується власна імунна система та пасивний імунітет. Такий імунітет зберігається недовго – поки в організмі циркулюють введені антитіла, але цього часу вистачає для того, щоб імунна система дитинчати зміцніла настільки, щоб впоратися вже самостійно з хвороботворними агентами та алергенами.

Молозиво корови є не лише енергетично цінним продуктом імунного харчування, а й хорошою профілактикою від простудних захворювань, що зміцнює імунітет, допомагає полегшити стан при хворобах суглобів, остеохондрозі, склерозі, діабеті, хворобах травної та серцево-судинної системи, запаленні сечовивідних шляхів, синдромі хронічної втоми, хворобі Альцгеймера [2].

Крім цього лікувальні властивості молозива корови проявляються у процесах старіння, а саме: молозиво насичує організм гормонами росту і стимулює їх вироблення організмом, з метою поліпшення стану шкіри і регенерації клітин і тканин. Молозиво покращує стан кишківника. Імуноглобуліни та інші речовини цієї біологічно активної речовини проникають вільно у внутрішнє середовище організму, не піддаючись руйнуванням. Фактори росту пригнічують запальні процеси та відновлюють пошкоджені клітини в стінках кишківника. Процес оздоровлення призводить до того, що кількість токсинів, які потрапляють в кров через стінки кишківника

знижується, в наслідок цього поліпшується всмоктування поживних речовин, що наділяють організм необхідною енергією.

Молозиво корів допомагає нейтралізувати дію шкідливих факторів, тим самим підсилюючи імунітет. Наявні дослідження сьогодення свідчать, що молозиво має позитивний ефект у протипухлинній терапії, оскільки такий поліфункціональний склад перешкоджає росту ракових клітин, полегшує процес хіміотерапії і підвищує його ефективність. Крім цього до складу молозива входять протеїди, які заважають формуванню ракових пухлин – ВС-1, ВС-2.

Тому, для збереження і підтримання активного здорового стану організму можна вживати молозиво, для того щоб його лікувальні властивості допомагали оздоровлення організму та підтримували імунну систему.

Метою дослідження було підтвердження поживної цінності молозива, за допомогою визначення фізико-хімічних показників (кількість білку, густина, титрована кислотність) молозива корів, а також здійснення порівняльного аналізу отриманий результатів із фізико-хімічними показниками молока «Простоквашино», яке виготовлене за ДСТУ 2661:2010.

Матеріали і методи дослідження. Досліджувані зразки отримували з молозива корів. Проби відбиралися кожного ранку починаючи з першого дня отелення корови і впродовж 3 днів.

В дослідженнях ми визначали густину досліджуваних зразків згідно з ГОСТ 3625-84 ареометричним методом, за допомогою ареометрів типу АМТ з ціною поділки шкали 1,0 кг/м^3. Визначення кислотності білка титрометричним методом (титрована кислотність) проводили відповідно до ГОСТ 3624-92. Масову частку білку в молозиві визначали згідно з ГОСТ 25179-90 на рефрактометрі типу АМ-2.

Результати і обговорення. Визначення густини – це один із важливих показників якості молока, який свідчить про його натуральність. Вимірюється в г/см^3, кг/м^3 і в градусах Ареометра (А) – умовна одиниця, яка відповідає сотим і

тисячним часткам густини, вираженої в г/см³ і кг/м³. Густина контрольного зразку (молоко «Простоквашино») відповідно до ДСТУ 2661:2010 становить 1027 кг/м^3. Перед визначенням густини проби з молозивом нагрівали до 35±5 °С з метою розплавлення жиру, перемішували, охолоджували до 20±2 °С, а потім за допомогою аерометра типу АМТ з ціною поділки шкали 1,0 кг/м^3 вимірювали густину. У ході дослідження було з'ясовано, що в першому зразку (день отелення) густина становила 1055 кг/м^3, в зразку №2 – 1043 кг/м^3, а в третьому – 1040 кг/м^3. Такі результати свідчать про те, що в вищезазначений зразках у великій кількості містяться сухі речовини, такі як білки, жири, вуглеводи, мікроелементи, які характеризують високу поживну цінність для новонароджених, але з кожним днем густина зменшується, тобто поступового вирівнюється концентрація цих речовин.

Наступним етапом дослідження було визначення титрованої кислотності молока. Цей показник характеризує свіжість продукту. Кисла реакція зумовлюється наявністю в молоці білків, кислих солей фосфорної, лимонної та інших органічних кислот і розчинених в молоці газів. Кислотність молока визначають у градусах Тернера, під яким розуміють об'єм водного 0,1 моль/дм^3 розчину гідроксиду натрію, необхідний для нейтралізації 100 см^3 продукту. Кислотність контрольного зразка згідно з ДСТУ 2661:2010 повинна становити 21°Т. Під час експерименту були отримані такі результати: титрована кислотність 1-го зразка дорівнює 47 °Т, 2-го становить 35 °Т, 3-го зразка – 28 °Т. Це можна пояснити тим, що зі зменшенням показників титрованої кислотності, зменшується і кількість сухих речовин.

Третім етапом наших досліджень було визначення найбільш важливого показника поживної цінності – це масова частка білка молока. Молочні білки – це одні з найважливіших компонентів молока, які є незамінною частиною раціону харчування людини і виконують функцію будівельного матеріалу клітин всього організму. Білки молока поділяються на дві основні складові:

казеїн – молочний білок, який становить близько 80 % від загального вмісту білка та сироваткові білки, вони становлять близько 20 % від загального білка. Відповідно до ДСТУ 2661:2010 масова частка білка в молоці «Простоквашино» (контроль) відповідає 2,8 %. З отриманих результатів варто відмітити те, що у перший день після отелення масова частка білку в 5 разів більше від контрольного зразка і становить – 15 %, але з кожним днем показники зменшувались і тим самим вирівнювалася концентрація білку, відповідно на 2-гий день кількість білка становить 8,8 %, а на 3-тій день = 6,8 %. Тобто, це пояснюється тим, що до складу молозива на порядок більше біологічно активних фрагментів ніж в звичайному молозиві, які необхідні для підтримки імунітету ніж звичайне молоко. Узагальнені результати наведені в табл.1.

Таблиця 1. Фізико-хімічні показники молозива та молока корів

Зразок	Густина, кг/м^3	Титрована кислотність, °Т	Масова частка білку, %
11-а доба (день отелу)	1055±5	47±3	15±1,5
2-а доба	1043±3,5	35±2	8,8±1
3-я доба	1040±3,5	28±2	6,8±1
Контроль (молоко «Простоквашино»)	1027	21	2,8

Висновки. Узагальнюючи отримані результати, слід відмітити, що на основі молозива корів можна створити ліофілізовані препарати чи продукти дитячого харчування для дітей, які потребують штучне вигодовування, оскільки такий цінний продукт багатий на вміст біологічно активних антитіл та інших імуноглобулінів, які не лише легко засвоюються, а й забезпечують створення пасивного імунітету новонародженого. Також молозиво корів має бактерицидну дію завдяки вмісту лізоциму, який розчиняє оболонки мікроорганізмів. Окрім цього, воно пригнічує розвиток патогенних

мікроорганізмів за рахунок високої кислотності та має високу поживну цінність і володіє прекрасними дієтичними властивостями.

Таким чином, молозиво − це свого роду природна «вакцина» для дітей і людей з ослабленим імунітетом від багатьох вірусів, бактерій і мікроорганізмів, перед якими незрілий імунітет абсолютно беззахисний.

Список літератури

1. *Просеков А.Ю., Курбанова М.Г.* Анализ состава и свойств белков молока с целью использования в различных отраслях пищевой промышленности // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – №4. – С. 68-71.

2. *Бондарчук О.Б.* Імунітет і харчування: функціональний взаємозв'язок // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2006. – № 2 (03). – С. 42-46.

ЕНЕРГЕТИЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ БІОСИНТЕЗУ ПОЛІСАХАРИДУ ЕТАПОЛАНУ НА СУМІШІ ВУГЛЕВОДІВ І СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ

Андрій Вороненко, Тетяна Пирог

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. Basing on the theoretical calculations of the energy requirements on the synthesis of the microbial exopolysaccharide ethapolan and biomass has been established that the optimal molar ratio of concentrations of energy-deficit (sucrose) and energy-excess (sunflower oil) substrates is 1:0,9. During growth of *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 on molasses (1 % by carbohydrates) and oil (0,8 % v/v) mixture (molar ratio of concentrations 1:0,9) the amount of synthesized EPS reached 7,5-8,0 g/l, that in 1,3-folds higher than indices on medium, in which molar ratio was 1:0,7 and 1:1,1.

Keywords: ethapolan, *Acinetobacter* sp. IMV B-7005, energy-unequivalent substrates, metabolism.

Вступ. Мікробні екзополісахариди (ЕПС) – це високомолекулярні екзогенні продукти метаболізму мікроорганізмів вуглеводної природи, що мають ряд переваг порівняно з хімічними аналогами. Зокрема, вони є біодеградабельними, нетоксичними, більш стійкими до деградації [0].

На сьогоднішній день для одержання ЕПС в основному використовують вуглеводну сировину, основним недоліком якої є висока вартість. Зважаючи на це в усьому світі ведеться активний пошук альтернативних дешевих субстратів для біосинтезу полісахаридів.

Однією з переваг мікробного полісахариду етаполану (продуцент *Acinetobacter* sp. IMB B-7005) є можливість його одержання на широкому наборі моно- (вуглеводи, етанол, ацетат, органічні кислоти, соняшникова олія) та змішаних (етанол/фумарат/ацетат і глюкоза) субстратах [4, 0]. Зазначимо, що

в сучасній літературі наявні лише поодинокі повідомлення про синтез мікробних полісахаридів на олієвмісних субстратах [2].

Одним з підходів до інтенсифікації технологій мікробного синтезу є використання суміші ростових субстратів [1]. Для підвищення трансформації вуглецю суміші субстратів у цільовий продукт необхідним є встановлення оптимального для його синтезу молярного співвідношення концентрацій моносубстратів у суміші.

У зв'язку з викладеним вище мета даної роботи – визначити оптимальне молярне співвідношення концентрацій меляси та соняшникової олії у суміші для забезпечення максимального синтезу етаполану.

Матеріали і методи дослідження. Штам *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 вирощували у рідкому мінеральному середовищі, що містило як джерело вуглецю та енергії суміш меляси (1 % за вуглеводами) та рафінованої соняшникової олії (0,6; 0,8 і 1,0 %, об'ємна частка) (молярне співвідношення концентрацій моносубстратів 1:0,7; 1:0,9 і 1:1,1 відповідно). Як субстрат для одержання інокуляту використовували олію (0,5 %). Культивування штаму IMB B-7005 здійснювали в колбах (750 мл) із 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при температурі 30 ºС упродовж 120 год.

Кількість синтезованого етаполану визначали ваговим методом після осадження ізопропанолом. ЕПС-синтезувальну здатність розраховували як відношення концентрації ЕПС до концентрації біомаси та виражали у г ЕПС/ г біомаси.

Енергетичні витрати на синтез етаполану з сахарози визначали як описано у роботі [1]. Генерацію енергії при катаболізмі лінолевої та олеїнової кислот розраховували на основі інформації про β-окиснення жирних кислот [3], а також на основі даних про активність ферментів циклу Кребса, гліоксилатного циклу і глюконеогенезу у *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 [1].

Результати і обговорення. Основою для здійснення теоретичного розрахунку молярного співвідношення концентрацій моносубстратів у суміші

була енергетична класифікація субстратів Бабеля [1], згідно з якою усі субстрати поділяються на енергетично надлишкові та дефіцитні залежно від кількості енергії, що генерується у процесі їх катаболізму до фосфогліцеринової кислоти (ФГК) − центрального вуглецевого попередника біосинтезу біомаси. Якщо кількість АТФ і відновлювальних еквівалентів, утворюваних під час метаболізму субстрату до ФГК, є достатньою для синтезу клітинних компонентів, такий субстрат називається енергетично надлишковим. Енергетично дефіцитними є субстрати, частина яких має бути окиснена до CO_2 з метою одержання енергії, необхідної для процесів конструктивного метаболізму [1].

Раніше [5] було встановлено, що для визначення оптимального співвідношення субстратів необхідно розрахувати енергетичні потреби синтезу ЕПС і біомаси на енергетично дефіцитному субстраті з наступним визначенням концентрації енергетично надлишкового субстрату, що забезпечить «покриття» енергетичних витрат на цей процес. Крім того, потрібно знати шляхи метаболізму ростових субстратів, структуру повторюваної ланки вуглеводного ланцюга ЕПС, а також співвідношення Р/О.

Згідно з енергетичною класифікацією Бабеля [1] глюкоза та фруктоза (входять до складу сахарози меляси) є енергетично дефіцитними субстратами, а олія, що містить вищі жирні кислоти, – енергетично надлишковим субстратом.

З літератури [3] відомо, що основними вищими жирними кислотами, що входять до складу олії є лінолева та олеїнова, інші жирні кислоти є мінорними компонентами, вміст яких не перевищує 10 %.

Для розрахунку оптимального молярного співвідношення концентрацій сахарози і соняшникової олії за умов росту *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 на їх суміші приймали такі припущення: 1) сахароза головним чином використовується для синтезу біомаси та ЕПС, а на енергетичні потреби використовується олія; 2) 50 % сахарози катаболізується шляхом гліколізу і 50 % – Ентнера-Дудорова; 3) рафінована соняшникова олія містить 50 %

лінолевої та 50 % олеїнової вищих жирних кислот; 4) ЕПС містить 50 % ацильованого полісахариду (АП); 5) до складу АП входить два залишки жирних кислот (лауринової та пальмітинової); 6) НАДФН, що утворюється у процесі катаболізму сахарози та жирних кислот, є джерелом відновлюваних еквівалентів, які окислюються до води через дихальний ланцюг; 7) співвідношення Р/О становить 2.

У процесі біосинтезу етаполану АТФ витрачається на синтез моносахаридів і жирних кислот, а генерується під час синтезу піровиноградної (ПВК), глюкуронової кислот та ацетил-КоА [2]. Розрахунки проводили аналогічно визначенню енерговитрат при утворенні ЕПС з глюкози [3].

Загалом розраховано, що генерація енергії у процесі синтезу ЕПС з сахарози становить 2,84 моль АТФ/ моль використаної сахарози.

Для визначення оптимальної концентрації енергетично надлишкового субстрату у суміші необхідно розрахувати кількість енергії, утворюваної під час його катаболізму.

Перетворення лінолевої ($C_{17}H_{31}COOH$) та олеїнової ($C_{17}H_{33}COOH$) жирних кислот на ФГК проходить у декілька етапів [3] (див. рисунок 1):

1) Активація жирної кислоти і перетворення її на відповідний ефір коферменту А за допомогою ферменту ацил-КоА-синтетази. Зазначимо, що під час даної реакції витрачається енергія двох макроергічних зв’язків.

2) Окиснення КоА-ефіру по *β*-положенню і розщеплення з утворенням ацетил-КоА та скороченого на два вуглецевих атоми КоА-ефіру жирної кислоти. Зауважимо, що на ділянках з ненасиченими зв’язками ФАД не відновлюється, оскільки немає необхідності в утворені подвійного зв’язку.

3) Залучення ацетил-КоА до неповного циклу Кребса та Кребса-Корнберга (гліоксилатний цикл).

4) Утворення ФГК у процесі глюконеогенезу. Зазначимо, що у *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 ключовим ферментом глюконеогенезу є фосфоенолпіруватсинтетаза [5].

Беручи до уваги наведену вище інформацію та прогнозовані схеми метаболізму (див. рисунок 1) рівняння перетворення лінолевої і олеїнової кислот на ФГК можна представити так:

$C_{17}H_{31}COOH + 11\ АТФ \rightarrow 4{,}5\ ФГК + 17\ НАДН + 10{,}5\ ФАДН_2 + 4{,}5\ CO_2$ (1)

$C_{17}H_{33}COOH + 11\ АТФ \rightarrow 4{,}5\ ФГК + 17\ НАДН + 11{,}5\ ФАДН_2 + 4{,}5\ CO_2$ (2)

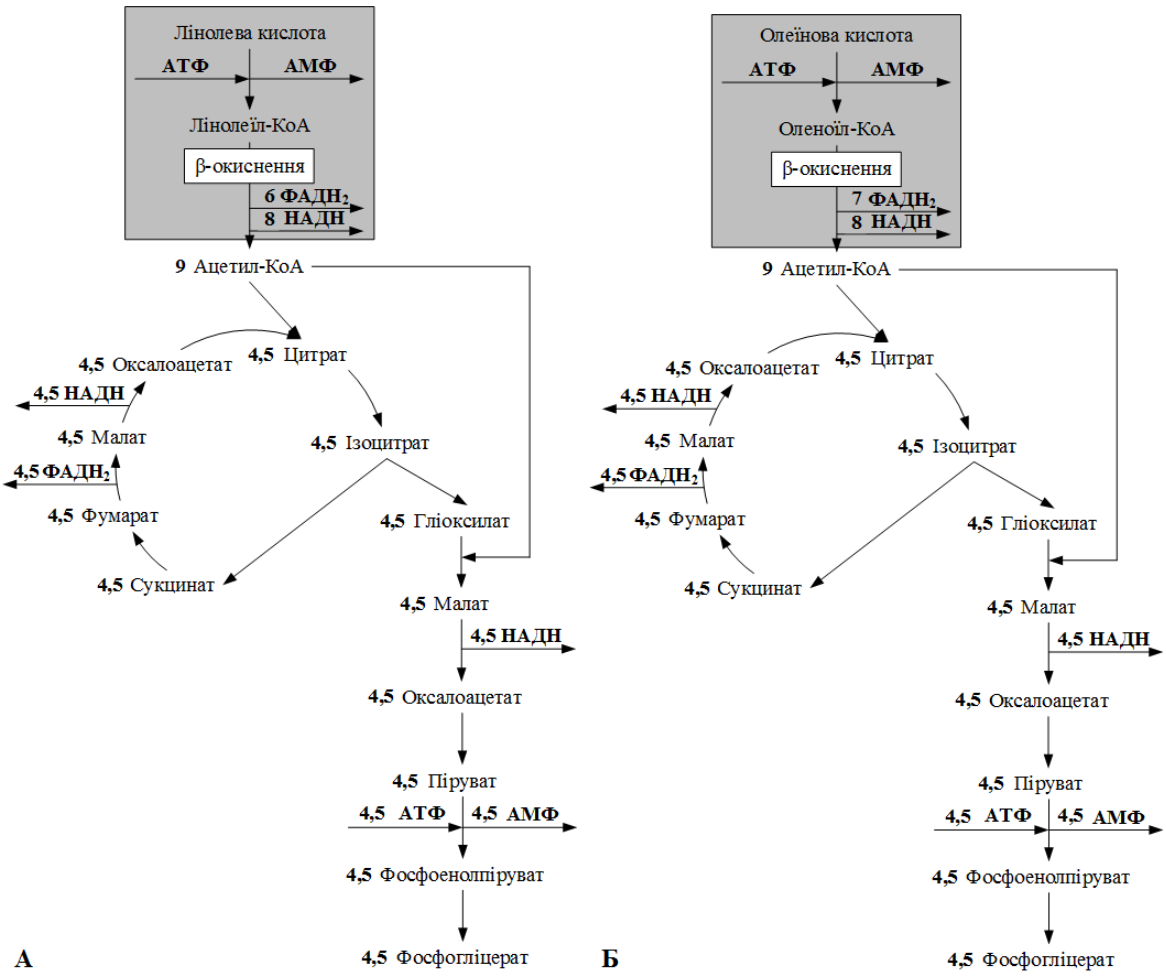


Рис. 1. Схеми перетворення лінолевої (А) та олеїнової (В) жирних кислот на ФГК. Сірим кольором виділено літературні дані.

Враховуючи припущення, що рафінована соняшникова олія містить 50 % лінолевої та 50 % олеїнової кислот, рівняння 1 і 2 при Р/О 2 набуває вигляду:

$C_{17}H_{32}COOH \rightarrow 4{,}5\ ФГК + 34\ АТФ$ (3)

З літератури [1] відомо, що рівняння синтезу біомаси з ФГК (за використання амонійного джерела азоту) має вигляд:

$$4\ \text{ФГК} + NH_3 + 29\ \text{АТФ} + 5{,}5\ \text{НАД(Ф)Н} \rightarrow 4{,}5\ (C_4H_8O_2N_1)_3, \qquad (4)$$

де $(C_4H_8O_2N_1)_3$ – формула моля біомаси.

Сумарне рівняння перетворення сахарози (50 % сахарози катаболізується за гліколітичним, а 50 % – за КДФГ-шляхом) на ФГК при Р/О 2 виражається таким рівнянням:

$$C_{12}H_{22}O_{11} \rightarrow 4\ \text{ФГК} + 6\ \text{АТФ} \qquad (5)$$

Виходячи з рівняння синтезу біомаси з ФГК (рівняння 4) та рівняння катаболізму сахарози до ФГК (рівняння 5), можна розрахувати, що у процесі росту на сахарозі потреба в АТФ для синтезу біомаси (у розрахунку на моль сахарози) становить 34 моль. Припускаємо, що цю енергію можна одержати з жирних кислот олії. Враховуючи, що під час синтезу ЕПС з сахарози генерується 2,84 моль АТФ/ моль використаного вуглеводу, за рахунок олії необхідно отримати 34 – 2,84 = 31,16 моль АТФ. З рівняння 3 випливає, що для отримання такої кількості енергії потрібно 0,9 моль жирних кислот олії.

Отже, молярне співвідношення сахарози і рафінованої соняшникової олії в середовищі має становити 1:0,9. Наприклад, за концентрації меляси 1 % (масова частка за вуглеводами, 10 г сахарози/л, або 0,03 моль) концентрація олії повинна бути 0,027 моль, або 7,6 г, або 0,8 % (об'ємна частка).

Подальші експериментальні дослідження показали, що показники синтезу етаполану (кількість синтезованих ЕПС 7,8 г/л, ЕПС-синтезувальна здатність 2,4 г ЕПС/г біомаси) за теоретично розрахованого молярного співвідношення концентрацій моносубстратів у суміші є в 1,3 рази вищими, ніж за інших молярних співвідношень (таблиця 1).

Висновки. У результаті проведеної роботи встановлено оптимальне молярне співвідношення концентрацій сахарози (меляси) та рафінованої соняшникової олії (1:0,9 відповідно) у суміші, що забезпечує максимальну конверсію вуглецю обох субстратів в етаполан.

Таблиця 1. Вплив молярного співвідношення концентрацій сахарози (меляси) та соняшникової олії на синтез етаполану

Молярне співвідношення моносубстратів	Концентрація, %		ЕПС, г/л	ЕПС-синтезувальна здатність, г ЕПС/г біомаси
	меляси	олії		
1:0,7	1	0,6	6,19±0,31	2,22±0,11
1:0,9	1	0,8	7,79±0,39	2,38±0,12
1:1,1	1	1,0	6,84±0,34	2,24±0,11

Список літератури

1. *Babel W., Müller R.H.* Mixed substrate utilization in microorganisms: biochemical aspects and energetics // J. Gen. Microbiol. – 1985. – V. 131, № 1. – P. 39−45.

2. *Pirog T.P., Ivakhniuk M.O., Voronenko A.A.* Exopolysaccharides synthesis on industrial waste // Biotechnologia Acta. – 2016. – V. 9, № 2. – P. 7−18.

3. *Ratledge C.* Biodegradation of oils, fats and fatty acids. In: Biochemistry of microbial degradation. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. – 590 p.

4. *Івахнюк М.О., Пирог Т.П.* Вплив способу підготовки посівного матеріалу на синтез полісахариду етаполану на олієвмісних субстратах // Наукові праці НУХТ. – 2015. − Т. 21, № 5. − С. 17−21.

5. *Пирог Т. П., Корж Ю.В., Лащук Н.В., Зборовська Б.М.* Синтез мікробного екзополіцукриду етаполану на суміші етанолу і меляси // Мікробіол. журнал. − 2006. − Т. 68, № 3. − С. 3–15.

Підгорський В.С., Іутинська Г.О., Пирог Т.П. Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. – К.: Наук. думка, 2010. – 327 с.

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА ОБРАЗОВАНИЕ АМИЛАЗНЫХ ФЕРМЕНТОВ В СОЛОДЕ

И.П. Данилов, А.В. Собакарь, Н.Ю. Кибенко, А.В. Омельченко

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

Аннотация. Оптимизация накопления комплекса амилазных ферментов в пшеничном солоде в условиях воздушно-оросительного способа замачивания и проращивания зерна в одном аппарате растворами минеральных удобрений. Минисолодовня представляет собой цилиндрический аппарат объёмом 5 дм³, заполненный на четверть водой, над которой закреплено сито. Для аэрации воды на дне сосуда размещён барботер, через который с различным расходом нагнетали воздух от миникомпрессора. На сите размещали слой зерна толщиной до 20 мм.

Ключевые слова: солод, замачивание, проращивание, пшеница, аэрация, солодовня, оптимизация, ферменты, минеральные удобрения.

Введение. Солод является одним из основных сырьевых компонентов в производстве таких продуктов, как пиво, спирт, квас и др. В первом случае его применяют, чтобы растворить и осахарить крахмал других продуктов, во втором пользуются одним только солодом; в обоих случаях действует диастаза, растворяя или крахмал посторонних веществ, или же крахмал самого солода; получающиеся при этом жидкости подвергаются брожению. Помимо этих производств, солод находит себе применение и для приготовления так называемого солодового экстракта, представляющего собой сгущённую вытяжку из солода. В пивоваренном производстве для приготовления солода находит себе применение, главным образом, ячмень, а иногда и пшеница; в винокуренном производстве применяются, помимо ячменя, ещё и овёс, рожь, пшеница, а в Америке и маис. Смотря по тому, применяется ли солод в сушёном или свежем виде, различают солод сухой и солод зелёный.

От стоимости солода во многом зависит конечная цена выпускаемой продукции. Затрата на приготовление солода в промышленности складывается в основном из цены на само зерно, его очистку, дезинфекцию, замачивание, проращивание, сушку и дробление. На выполнение перечисленных стадий отводится не мало времени и средств. Качество солода зависит, прежде всего, от его активности осахаривать содержимое зерна.

Для развития максимальной амилазной активности солода требуется тщательное соблюдение технологических условий его приготовления: влажности, температуры, аэрации, режима перемешивания, длительности каждой стадии, сушки и другое.

Основной целью исследования является оптимизация накопления комплекса амилазных ферментов в процессе приготовления солода.

Материалы и методы исследования. В работе представлены исследования процессов замачивания и проращивания пшеницы в условиях её орошения растворами следующих удобрений: нитроаммофоски, сульфата калия, суперфосфата и экопланта Р8К 32.

Замачивание и проращивание пшеницы проводили в одном аппарате – минисолодовне (рис. 1). Для этого использовали 5-ти литровую цилиндрическую ёмкость, которая наполняется водой до ¼ её объёма. Над водой крепится сетка, накрытая тканью. Слой продезинфицированного зерна насыпали толщиной 20 мм.

Для процесса аэрации зерна на дно посуды помещали барботер, через который миникомпрессором нагнетали воздух. Периодически зерно опрыскивали растворами минеральных удобрений и перемешивали. Для приготовления растворов брали питьевую воду с общей жёсткостью до 6,5 мг-экв/л. Концентрация удобрений составляла 0,01-0,1 %.

Для замачивания и проращивания зерна использовали воздушно-оросительный способ. Периодическое увлажнение зерна через каждые 4-6 часов путём орошения и поддерживание постоянных условий дыхания с

помощью продування влажным воздухом и одновременным удалением продуктов дыхания позволяет сократить время замачивания и проращивания продукта. Расход воздуха уменшали или совсем прекращали после появления корешка. Тем самым угнетали развитие самого зародыша и повышали скорость накопления фермента. Перемешивание солода проводили 2 раза в сутки в начале проростання, а в конце – 1 раз в сутки. По нашим наблюдениям присутствие в орошаемой воде минеральных удобрений способствует ещё большей скорости биосинтеза ферментов.

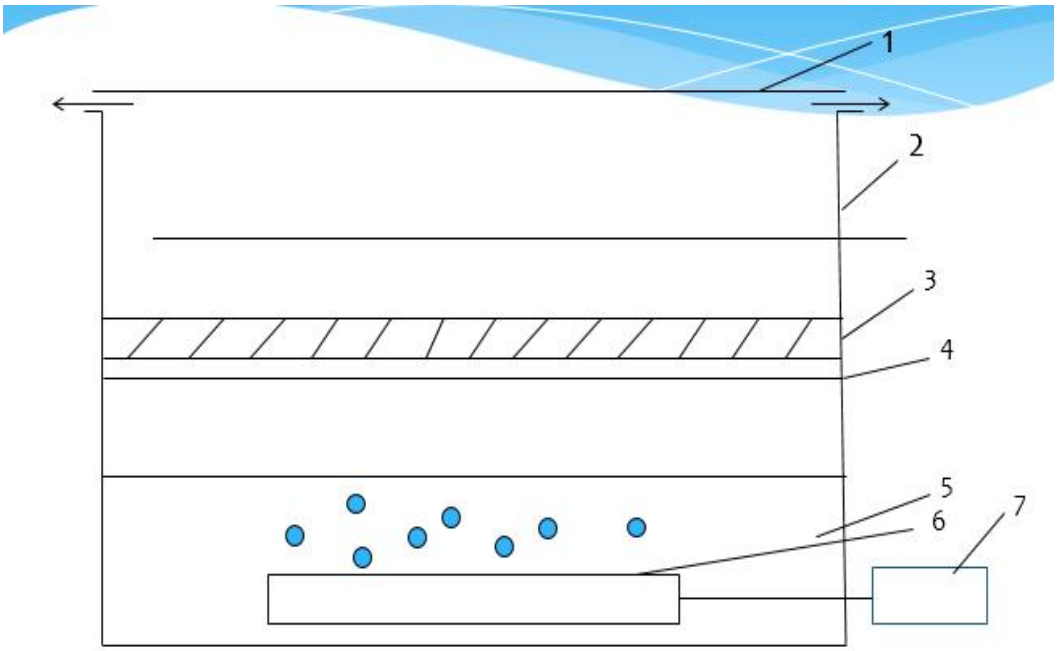


Рис. 1. Схема минисолодовни.

1 – крышка; 2 – корпус; 3 – слой зерна; 4 – сетка; 5 - вода;
6 - барбатер; 7 - миникомпрессор

Контроль процессов замачивания и проращивания зерна в основном сводился к наблюдению и поддержанию на должном уровне промышленного технологического режима – температуры и влажности. Солодоращение наблюдалось при температуре 15-16 °С в течении 6-7 суток. Качество свежего солода контролировали по его органолептическим свойствам и длине зародышевого корешка (8-10 мм). Сушку солода проводили в сушильном

шкафу со встроенным вентилятором с постепенным подъёмом температуры с 45 °С до 65 °С в течении 15-18 часов. Высушивание прекращали, когда влажность продукта достигала 4-6 %. Затем у солода обламывали ростки и дробили зерно в керамической ступке. Хранили солод в герметически закрытых флаконах при комнатной температуре в течении 1-2 месяцев.

Амилолитическую активность солода определяли йод-крахмальным способом. Для этого брали 1г сухого дробленого солода и помещали его в стеклянный стакан, добавляли 50 мл питьевой воды температурой 30 °С и ставили на магнитную мешалку. После 10 минут перемешивания полученный раствор экстрактивных веществ фильтровали, добавляли по 2-5 мл 1 %-го крахмала и 1-2 капли йода. По мере исчезновения окраски к раствору снова добавляли крахмал и йод. Таким образом мы определяем количество в граммах крахмала, гидролизующегося до мальтозы и декстринов в течении 1 часа.

Результаты и обсуждение. Обычно на скорость замачивания и проращивания зерна влияет солевой состав воды. В жёсткой воде замачивание происходит медленнее. Как показали наши наблюдения, при воздушно-оросительном способе замачивания не происходит переувлажнение зерна. Поэтому при отсутствии чрезмерного проникновения солей через полупроницаемую мембрану зерна гибель зародыша считается не возможной.

Выводы. Исследование влияния водных растворов минеральных удобрений на скорость образования амилазных ферментов в солоде можно увидеть по следующим результатам:

- присутствие в орошаемой воде небольших концентраций минеральных удобрений (0,01-0,1 %) увеличивает активность ферментов в пшеничном солоде на 10 % ± 0,2 %;
- увеличение активности ферментов наблюдается в ряду: суперфосфат – экоплант – калий сульфат – нитроаммофоска;
- при изменении концентрации минеральных удобрений в 10 раз активность ферментов не изменяется.

Список литературы

1. Мальцев П.М. Технология бродильных производств.– М.: Пищевая промышленность, 1980. – 450с.

2. Булгаков Н.И. Биохимия солода и пива. – М.: Пищевая промышленность, 1976. – 280с.

3. Куц А.М., Кошова В.М. Технологія бродильних виробництв: Конспект лекцій з дисц. «Загальні технології харчової промисловості» для студ. ден. та заоч. форм навчання напряму підготовки 6.051701 “Харчові технології та інженерія”. – К.: НУХТ, 2011. — 156 с.

4. Ермолаева Г.А., Колчева Р.А. Технология оборудования и производства пива и безалкогольных напитков. – М.: центр «Академия», 2000. – 416с.

5. Пирог Т.П., Ігнатова О.А. Загальна біотехнологія. Підручник. – Київ: НУХТ. 2009.-328с.

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОТРИМАННЯ БІОВОДНЮ

Максим Зеленко

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. Main biotechnology ways for obtaining biohydrogen (photo- and dark-fermentation, two-stage process which combine dark (first stage) and photic (second stage) fermentation were considered. Analysis of biohidrogen production technologies showed their prospects, however, difficulty of realization and low yield of final product significantly hamper the introduction of such technologies.

Keywords: biohydroge, photofermentation

Вступ. На сьогоднішній день більшість країн будують свій економічний розвиток на використанні викопних видах палива (нафта, природний газ, вугілля). Проте запаси цих корисних копалин є обмеженими: при нинішніх темпах споживання нафти залишилося на 50, газу –65, а вугілля − на 200 років, [1].

Дотепер викопні види палива забезпечують майже 80 % енергії в світі,серед яких нафта − близько 40 % від загального світового обсягу [2].

При згорянні викопні види палива утворюють діоксид вуглецю, діоксид сірки і окис вуглецю. Упродовж багатьох років ці газоподібні викиди негативно впливали на навколишнє середовище, що спричинило ефект глобального потепління. Переломною концентрацією вуглекислого газу в атмосфері є 450 ppm, поточних рівнів − 370 ppm [2]. Якщо кількість викидів двоокису вуглецю до 2050 року буде зменшена на 50−85 %, то глобальне потепління буде обмежено 2−2,4 °С [3].

Нині людство продовжує пошуки альтернативних джерел енергії, так званої безвуглекислотної енергетики (гідро- та ядерної, вітрової, геотермальної, термоядерного синтезу, водневої). Відомо, що водень має вищу питому енергоємність (142 МДж/кг), ніж метан (56 МДж/кг),

природний газ (54 МДж / кг) і бензин (47 МДж / кг) [3].

48 % загального світового виробництва водню припадає на паровий риформінг метану, 30 % одержують з нафти, 18 % − від газифікації вугілля, 3,9% − від електролізу води, і 0,1 % − з інших джерел. Це означає, що в усьому світі 96% виробництва водню виробляється з викопних джерел [4].

Мета роботи. Аналіз основних біотехнологій одержання біоводню як природного абсолютно екологічного безвуглецевого виду палива.

З точки зору біотехнології, одержання H_2 можливе у процесі світлової (фото-) та темнової ферментації.

Фотоферментація. Для реалізації даного процесу перспективними біологічними агентами є пурпурові несіркові аноксигенні фотосинтезувальні бактерії − представники *α*-протеобактерій (*Rhodobacter sphaeroides, Rhodobacter capsulatus, Rhodovulum sulfidophilum*W-1S*, Rhodopseudomonas palustris*) [2].

Інтерес до даної групи бактерій зумовлений такими причинами: можливість використання енергії світла для генерації АТФ і широкого спектру органічних сполук (піруват, ацетат, бутират, лактат та ін. органічні кислоти, амінокислоти, спирти і вуглеводи) як джерела вуглецю та донора електронів; здатність до фіксації CO_2 в циклі Кальвіна-Бассама; наявність нітрогеназ-гідрогеназного комплексу, тобто здатність до асиміляційної азотфіксації. Таким чином, несіркові фотосинтезувальні бактерії можуть виявитися корисними у процесі подальшого перетворення різноманітних продуктів, утворюваних під час анаеробного розкладання органічних відходів [1,5].

Утворення водню спряжено з активністю двох ферментів: [Mo-Fe]-нітрогенази (розчинної) і [Ni-Fe]-гідрогенази (мембранзв'язаної), які є взаємозалежними та активними навіть за відсутності світла. Водень утворюється з двох протонів, транспортованих АТФ-азним комплексом, та електронів від [Fe-S] білка першої фотосистеми, з витратами енергії АТФ. Термодинамічно невигідна реакція слугує своєрідним стоком протонів: зменшує надлишок протонів на зовнішній стороні

мембрани, та сприяє утворенню АТФ у клітині та діяльності нітрогенази, за умов інтенсивного освітлення (1500 лк) [1,5,6].

При культивуванні продуцентів водню необхідно звернути увагу на джерело електронів і вуглецю, азоту, наявність в середовищі йонів Fe, Ni, Mg, Mo. Так, при періодичному культивуванні пурпурових бактерій на середовищі з гліцерином (20 ммоль) та глутаматом (4 ммоль) вихід водню за складає 5-6 моль H_2/моль гліцерину [1].

Оскільки бактерії є фотосинтетиками, важливу роль відіграє площа оптимальної поверхні освітлення. Так, у процесі звичайного періодичного фотокультивування на середовищі з глюкозою вихід H_2 становив 3,3 моль/моль глюкози, а після оптимізації − 5,5 моль/моль глюкози. Реалізація безперервного процесу дала змогу підвищити вихід водню до 9 моль H_2/моль глюкози за 48 год культивування [1]. У той же час під час культивування *Rhodopseudomonas palustris* на середовищі із технічним гліцерином (9 г/л) упродовж 240 год вихід водню становив 6 моль H_2/моль субстрату[7].

Ферментація за відсутності світла.

Факультативні анаероби. До даної групи продуцентів водню належать мікроорганізми роду *Enterobacter* (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae*) [2].

Утворення водню здійснюється у процесі функціонування форміатліазного ферментного комплексу, який складається з форміат-гідрогенліази і гідрогенази, які пришвидшують розкладання форміату – проміжного продукту бродіння продуцентів [2].

Облігатні анаероби. Дані продуценти представлені мікроорганізмами роду *Clostridium* (*C. saccharoperbutylacetonicum, C. tyrobutyricum, C. butyricum, C. acetobutyricum, C. beijerinckii, C. thermolacticum, C. thermocellum, C. paraputrificum*) [2].

Генерація водню зумовлена активністю піруват-фередоксин-оксидоредуктази. Фермент окислює піруват до ацетил-КоА з утворенням

відновленого фередоксину, який окиснюється, віддаючи електрони та з'єднуючи два протони з утворенням H_2 [2].

Факультативні та облігатні анаероби продуценти водню здатні споживати складні вуглеводні субстрати (крохмаль, оброблена целюлоза), та утилізувати відходи виробництв (технічний гліцерин, відходи крохмале-патокового та спиртового виробництва, домашні стічні води). Крім того, ці мікроорганізми є невибагливими до умов середовища (pH 4,5-7, температура 36 °C) [2].

Технологічною особливостю отримання водню у процесі безсвітлової ферментації за участю облігатних анаеробів є необхідність зменшення парціального тиску H_2 (від 20 до 10^{-2} кПа) згідно рівняння:

$$2\text{Фередоксин}_{(\text{відн})} + 2H^+ \rightarrow 2\text{Фередокисн}_{(\text{окис})} + H_2$$

Дана реакція є термодинамічно невигідною (ΔG^0 + 3,1 кДж/моль), проте зниження парціального тиску водню зміщує рівновагу рівняння вправо, та збільшує вільну енергію Гіббса (до ΔG^0 − 4 кДж/моль). Зниження тиску досягається або нагріванням культуральної рідини, або збільшенням газообміну в апараті [2,6].

Так, під час культивування бактерій роду *Clostridium* у середньому вихід водню становить 1,1 моль H_2/моль гексоз, а при зменшенні парціального тиску досягає 2,8 моль H_2/моль гексоз. Проте такі показники є невисокими, і розробки з інтенсифікації процесу продовжуються [2].

У то же час у разі вирощування *E. cloacae* ІІТ-ВТ 08 на середовищі з глюкозою, цукрозою та целобіозою вихід водню становив 2,2, 6,0, та 5,6 моль H_2/моль субстрату, відповідно. У процесі спільного культивування *Thermotoga neapolitana* DSM 4359 та *E. aerogenes* HU-101 на середовищі з технічним гліцерином (10 г/л) утворюється 1,98 моль H_2/моль субстрату [2, 7].

Такі результати засвідчують універсальність штамів-продуцентів і дають змогу підібрати оптимальний субстрат для їх вирощування.

Двостадійний процес отримання біоводню. Даний процес передбачає послідовне культивування двох продуцентів біоводню: на першому етапі

здійснюється безсвітлова ферментація за участю мікроорганізмів, які здійснюють зброджування відновлювальних джерел вуглецю, на другому − фотоферментація продуктів бродіння (органічних кисилот та спиртів).

Наприклад, використання *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* на першому етапі та *Rhodobacter capsulatus,* або *Rhodopseudomonas palustris* на другому з використанням меляси, глюкози, відходів виробництва картопляного крохмалю,*Clostridium butyricum* та *R. palustris* − з глюкози [1].

Перевагами двостадійного процесу є можливість використання як субстратів відходів крохмального виробництва, продуктів гідролізу целюлози, технічного гліцерину та стічних вод. Крім того, послідовний процес дозволяє ефективніше споживати субстрати, та максимізувати вихід H_2, оскільки з гексоз можна отримати до 12 моль H_2 [1].

Проте насправді дослідження вказують на те, що вихід водню у двохстадійному процесі коливається від 5-7 моль H_2/моль гексози. Це спричинено рядом технологічних перешкод, а саме чутливістю пурпурових бактерій до pH (оптимум 6-7), високих концентрацій органічних кислот та джерел азоту [1].

Висновки. На сьогоднішній день активно відбувається пошук альтернативних джерел енергії, й одним із пріоритетних напрямів в енергетиці є отримання біоводню. Проте незважаючи на суттєві позитивні результати у розумінні процесу утворення біоводню, відомі технології не відповідають високим економічним вимогам сучасності.

Список літератури

1. *Hallenbeck P.C.*Biohydrogen: Chapter 7. Photofermentativebiohydrogen production – Elsevier B.V. – 2013 – p. 145-159. DOI:10.1016/B978-0-444-59555-3.00007-6.

2. *Balachandar G., Khanna N., Das D.* Biohydrogen: Chapter 6.Biohydrogen production from organic wastes by dark fermentation– Elsevier B.V. – 2013 – p. 103-144. DOI:10.1016/B978-0-444-59555-3.00006-4

3. *Pandu K, Shiny J.* Comparisons and limitations of biohydrogen production processes: a review // Int. J. Adv. Eng. & Tech. – 2012. – V.3. – P. 342-356.

4. *Abánades A.*Thechallengeofhydrogenproductionforthetransition to a CO_2-free economy // Agronomy Research. – 2012. – Issue 1. – P. 11-16.

5. *Trchounian A.* Mechanisms for hydrogen production by different bacteria during mixed-acid and photofermentation and perspectives of hydrogen production biotechnology // Crit. Rev. Biotechnol. – 2015. – V.35, N.1. – P.103-113. DOI: 10.3109/07388551.2013.809047.

6. *Constant P., HallenbeckP.C.*Biohydrogen: Chapter5. Hydrogenase – Elsevier B.V. – 2013 – P.75-102. DOI: 10.1016/B978-0-444-59555-3.00005-2.

Pirog T.P., Grytsenko N.A., Sofilkanich A.P., Savenko I.V. Technologies of synthesis of organic substances by microorganisms using waste biodiesel production // Biotechnol.acta. – 2015. - V. 8, N 3. – P.9-23. DOI: 10.15407/biotech8.03.009.

ВПЛИВ ДОБАВОК НА МІКРОБІОЛОГІЧНУ БЕЗПЕКУ М'ЯСНИХ ВИРОБІВ

Катерина Зусько, Наталія Грегірчак

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. Researches on increase of microbiological safety of meat products during the storage with various additives on the main indicators are completed: QMAFAnM, coli form bacteria, existence of staphylococcus, clostridium and molds. Compliance of the studied samples (excepting sausages for the 7th day of storage) to the established standards is confirmed. The dynamics of general contamination level change in the presented samples of meat products at storage and influence of various additives on their microbiological safety are researched.

Keywords: contamination, meat products, additives.

Вступ. Ринок м'ясних продуктів, а саме виробів з яловичини, курятини, свинини і дикого кабана, активно розвивається. Покупців все частіше цікавить не вартість продукції, а наявність в складі продукту корисних для здоров'я інгредієнтів, також якість і безпека виробів, що використовуються у харчуванні. З усього розмаїття м'ясних виробів великою популярністю у споживачів користуються сосиски, котлети та шашлик. Вони є незамінним джерелом вітамінів, білків, жирів, мінеральних речовин та інших важливих компонентів. Але сучасні дослідження і практичний досвід свідчать про те, що вироби з м'яса дуже швидко псуються [2]. Тому, необхідною є розробка нових рецептур м'ясних виробів, які б забезпечили більш тривалий термін зберігання продуктів і сприяли покращенню їх смакових властивостей.

На сьогодні при приготуванні м'ясних виробів в якості добавок використовують різні овочі та фрукти, борошняні вироби, рослинні жири, пряноші, спеції [3,9]. Такі вироби мають більш високу біологічну цінність, оскільки ці добавки у своєму складі містять велику кількість активних речовин.

Так, наприклад, відвар з цибулинного лушпиння багатий вітамінами А, В, С, Е, мікро-і макроелементами. До складу відвару з цибулинного лушпиння входять також фітонциди, які мають антимікробні властивості, особливо до кишкових патогенних мікроорганізмів, золотистого стафілокока і α-гемолітичних стрептококів. Додавання відвару з цибулинного лушпиння і кверцетину в рецептуру м'ясних виробів сприяє тривалішому зберіганню виробів, що обумовлено їх антимікробною дією [5,8].

Хімічний склад борошна представлений великою кількістю крохмалю і меншими кількостями цукру, жиру, клітковини, мінеральних речовин і вітамінів [4]. Борошно додають в рецептуру котлет з метою поглинання і утримання рідини, яку виділяє м'ясо при тепловій обробці. Крім того, додавання борошна сприяє розм'якшенню сполучної тканини і надає виробам рихлості.

Ківі містить вітаміни (особливо А, В, С, Е, D), мікро- і макроелементи, моносахариди, дисахариди і клітковину [6]. Ківі використовують в основному при приготуванні маринаду для шашлику з метою пом'якшення м'яса та надання йому ніжності і кислинки.

Соняшникова олія багата на цінні органічні кислоти, такі як пальмітинова, лінолева, ліноленова, олеїнова, стеаринова, арахісова, міристинова. Крім того, в соняшниковій олії містяться фосфоровмісні речовини, токофероли, віск, леткі речовини, нежирові домішки, кількість яких залежить від способу віджимання і подальшої переробки олії [7]. Соняшникову олію використовують як компонент маринаду для приготування шашлику. Вона надає приємну рум'яну кірочку при жарінні і запіканні, а також виступає провідником для спецій і кислот.

Оскільки усі досліджувані добавки мають оптимальний склад активних речовин, то, відповідно, вони служать хорошим середовищем для розвитку мікроорганізмів і подальшого псування м'ясних виробів [1]. Тому визначення

впливу різних добавок на мікробіологічну безпеку м'ясних виробів є дуже важливим для безпечного споживання продукту.

Матеріали і методи дослідження. Вивчення мікробіологічного складу м'ясних виробів (котлет, сосисок, шашлику) проводили відповідно до основних методик, затверджених Міністерством охорони здоров'я України, і державних стандартів (ДСТУ ISO 18593:2006; 6887-2:2005; 4833:2006; 4832:2006; 7937-2006; 7954:2006, ГОСТ 7702.2.4-93).

Для дослідження було обрано 7 зразків, серед яких 3 види котлет (на основі курятини і свинини з добавками борошна, відвару з цибулинного лушпиння і кверцетину), 2 види сосисок (на основі курятини і свинини з добавками відвару з цибулинного лушпиння і кверцетину) і 2 види шашлику (з яловичини в маринаді з соняшникової олії і з м'яса дикого кабана в маринаді з ківі). В якості спецій для приготування усіх зразків використовували сіль і перець.

З метою дослідження динаміки зміни показників мікробіологічної безпеки і стабільності м'ясних виробів в процесі зберігання, аналіз проводили відразу після приготування виробів, а також на 3-й і 7-й день зберігання (котлети), 7-й і 9-й день зберігання (сосиски) 7-й, 9-й, 13-й день зберігання (шашлик). Досліджувані зразки зберігали при температурі 0...6 °С, а зразки шашлику ще і при 10 °С.

На кожному етапі дослідження у виробах з курятини, яловичини, свинини і дикого кабана контролювали кількість мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів (КМАФАМ), наявність бактерій кишкової палички (БГКП), мезофільних сульфітредукуючих клостридій і золотистого стафілокока (*Staphylococcus aureus*), кількість дріжджів і пліснявих грибів.

Результати і обговорення. На мікробіологічну безпеку м'ясних виробів впливають і фізико-хімічні чинники, одним з яких є показник масової частки вологи, що сприяє розмноженню мікроорганізмів в продукті і швидкому його

псуванню [1]. Тому представляє інтерес дослідження впливу фізико-хімічних показників м'яса тварин (табл. 1) на їх мікробіологічну безпеку.

Відмічено, що вміст масової частки вологи у виробах з яловичини вище в 1,1 і 1,06 рази порівняно з показниками у виробах зі свинини і м'яса дикого кабана відповідно. У м'ясних виробах зі свинини виявлений найбільший вміст масової частки жиру 14,29 ± 0,21, що в 1,9 рази більше показника у виробах з м'яса дикого кабана і в 4,1 рази більше показника виробів з яловичини. Вміст білку і золи вище у виробах з м'яса дикого кабана (18,65 ± 1,17; 1,15 ± 0,01) і яловичини (18,9 ± 0,28; 1,1 ± 0,02), а нижче – у виробах зі свинини (15,08 ± 0,25; 0,95 ± 0,002).

Таблиця 1. Фізико-хімічні показники м'яса тварин

Вид сировини	Масова частка, %			
	Вологи	Білка	Жиру	Золи
Дикий кабан	72,52±0,45	18,65±0,17	7,68±0,18	1,15±0,01
Свинина	69,68±0,51	15,08±0,25	14,29±0,21	0,95±0,02
Яловичина	76,59±0,55	18,9±0,28	3,41±0,22	1,1±0,02

Мікробіологічний контроль м'ясних виробів (котлет, шашлику) показав, що впродовж 7 днів зберігання котлети при t = 0...6 °С (табл. 2) і 13 днів зберігання шашлик при t = 0...6 °С і t = 10 °С (табл. 3), незалежно від добавок і маринадів, які використовували при їх приготуванні, відповідають встановленим санітарно-мікробіологічним нормативам та є безпечними для споживання, оскільки перевищення КМАФАнМ і кількості пліснявих грибів не спостерігалося і в продукті не виявлено умовно-патогенних мікроорганізмів. Підвищення температури зберігання шашлику на 6 °С істотно не впливає на його мікробіологічну безпеку (табл. 3).

А ось сосиски з добавками відвару з цибулинного лушпиння і кверцетину вже на 7-й день зберігання при t = 0...6 °С не відповідають встановленим

санітарно-мікробіологічним нормативам і не є безпечними для споживання, оскільки показник КМАФАнМ перевищує норматив в десятки разів (табл. 2).

Оскільки вміст поживних речовин вищий у свинині (табл. 1), то можна сказати, що в котлетах і сосисках поживні речовини знаходяться в доступнішій формі, що сприяє розвитку мікрофлори в продуктах (табл. 2).

Таблиця 2. Мікробіологічні показники визначення КМАФАнМ в котлетах і сосисках на 7-й день зберігання при t = 0...6 ^{0}C

Назва продукту	КМАФАнМ, КУО/г	
	норматив	результат
Котлета с добавкою муки	1×10^7	$5{,}9\times10^4$
Котлета с добавкою відвару із цибулиння	1×10^7	$5{,}84\times10^4$
Котлета с добавкою кверцетину	1×10^7	$3{,}28\times10^4$
Сосиска с добавкою відвару із цибулиння	1×10^3	$1{,}38\times10^4$
Сосиска с добавкою кверцетину	1×10^3	$5{,}9\times10^3$

Проаналізувавши дані табл. 2 слід зазначити, що мікробіологічні показники визначення КМАФАнМ в котлетах і сосисках з різними добавками відрізняються. Найменші показники КМАФАнМ виявлені у виробах з кверцетином. Це можна пояснити його антимікробними властивостями.

Таблиця 3. Мікробіологічні показники визначення КМАФАнМ у шашлику

Назва продукту	КМАФАнМ, КУО/г				
	норматив	результат			
		9-й день зберігання		13-й день зберігання	
		t = 0...6 ^{0}C	t = 10 ^{0}C	t = 0...6 ^{0}C	t = 10 ^{0}C
Шашлик в маринаді із соняшникової олії	1×10^6	$2{,}38\times10^4$	$3{,}04\times10^4$	$6{,}1\times10^3$	$1{,}98\times10^4$
Шашлик в маринаді із ківі	1×10^6	$1{,}46\times10^4$	$2{,}8\times10^4$	2×10^2	$1{,}9\times10^3$

Результати мікробіологічних досліджень шашлику при різних температурах зберігання свідчать про можливість тривалого зберігання виробів при t = 0...6 °С, адже швидкість росту мікроорганізмів при цій температурі нижча, ніж при t = 10 °С. Також було виявлено, що обнасінення мікроорганізмами шашлику на основі яловичини є вищим в порівнянні з шашликом на основі м'яса дикого кабана, що може свідчити про швидке його псування при зберіганні. Це може бути пов'язано з великим вмістом вологи в яловичині (табл. 1).

Висновки. Отже, мікробіологічний аналіз досліджуваних м'ясних виробів показав, що котлети та шашлик нової рецептури є безпечними для споживання впродовж усього терміну придатності. Сосиски не відповідають санітарно-мікробіологічним показникам на 7-й день зберігання. Кількість грибів в зразках впродовж усього терміну зберігання невисока. БГКП, сульфітредукуючих клостридій і золотистого стафілокока у м’ясних виробах не виявлено, що свідчить про дотримання санітарно-гігієнічних норм при їх виготовленні.

Список літератури

1. Баль-Прилипко Л.В. Влияние различных факторов на срок и качество хранения мясных продуктов // Мясное дело. – 2006. – №8. – С. 53-55.

2. Богатко Н.М., Салата В.З., Богатко Д.Л. Ідентифікація м’яса тварин за показниками якості та безпечності // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З.Ґжицького. – 2013. – №1. – С. 8 – 12.

3. Використання маринадів у технології приготування страв із м’яса / [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.hduht.edu.ua.

4. Дробот В.І., Михонік Л.А., Семенова А.Б. Порівняльна характеристика хімічного складу та технологічних властивостей суцільнозмеленого пшеничного борошна та борошна спельти // Хранение и переработка зерна. – 2014. – № 4. – С. 37-39

5. Кверцетин – мощное оружие против комплекса болезней цивилизации // Medical Nature. – 2013. – № 1. – С. 6-9.

6. Корисні властивості ківі / [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://korust.znay.info.

7. Соняшникова олія: шкода та користь / [Електронний ресурс]. – Режим доступа: http://likarski-roslini.net.ua.

8. Стадницька Н.Є., Комаровська-Порохнянець О.З., Кіщак Х.Я. Рослини з протимікробними властивостями // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». – 2011. – №700. – С. 111-116.

9. Технологія приготування та відпуск страв з котлетної маси м’яса / [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://proftekhosvita.org.ua.

ВИВЧЕННЯ ДЕЯКИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДРІЖДЖІВ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ЧЕРВОНИХ ВИНОМАТЕРІАЛІВ

Олена Івахненко, Ольга Калюжная, Леонід Стрельников

Національний фармацевтичний університет, м. Харків,Україна

Abstract. Some properties of yeasts isolated from different types of red wine were studied. It was established that the best resistance to acids, alcohol, coldness and level "life force" are inherent races yeasts isolated from spontaneous flora tablespoons red wine obtained from grapes Novak and Isabelle.

Key words: yeast, wine, resistance to acids, resistance to alcohol, test "life force".

Вступ. На сьогоднішній день в складних соціально-економічних умовах в Україні склалася ситуація дефіциту вітчизняної продукції виноробної промисловості. З одного боку, це пов’язано зі скороченням сировинної бази, дороговизною імпортних заквасочних дріжджових культур, а з іншого – з відсутністю стандартизованих технологій виготовлення червоного столового вина з сировини південно-східного регіону України та непостійним складом мікрофлори виноградних грон. Вино – це продукт спиртового бродіння виноградного соку (сусла). Для бродіння сусла застосовують чисті культури винних дріжджів низового бродіння *Saccharomyces vini (ellipsoideus)*, а для деяких вин (типу хересу), крім того, дріжджів *Saccharomyces oviformis*. Іноді закваскою служить змішана дріжджова флора винограду. При виборі виробничих рас дріжджів слід враховувати технологічні вимоги: дріжджі повинні повністю зброджувати сусло; бути стійкими до підвищеного вмісту цукру і спирту; бути стійкими до SO_2; швидко осідати після бродіння та давати щільний осад [1, 2]. Різні раси *Saccharomyces vini* володіють різним температурним оптимумом бродіння, утворюють неоднакову кількість спирту (від 10 до 18 %) і побічних продуктів. Різний і склад побічних продуктів, що відбивається на смакових і ароматичних властивостях вин. В процесі розвитку

дріжджі не тільки зброджують цукор, але і значно змінюють в суслі азотовмісні речовини і склад органічних кислот. Залежно від використовуваної сировини, біологічних особливостей вживаної раси дріжджів і характеру технологічного процесу отримують різні вина [2, 3].

На кафедрі біотехнології проводиться робота з розробки технології виготовлення червоного столового вина з вітчизняної сировини. Попередньо було досліджено і проаналізовано якісні характеристики виноматеріалів, отриманих зброджуванням спонтанною мікрофлорою грон деяких сортів винограду та виділено різні раси дріжджів. В свою чергу слід зазначити, що до дріжджів, як посівного матеріалу, у виноробстві висуваються наступні вимоги: вони повинні бути стійкими до спирту, низької величини pH, розмножуватися при температурі 10-14 °С та мати велике значення «життєвої сили», тобто високу активність метаболічних процесів. Тому метою даної роботи стало вивчення деяких властивостей виділених дріжджових культур для використання в якості посівного матеріалу у виробництві червоних виноматеріалів.

Матеріали і методи дослідження. Об’єктами дослідження є раси винних дріжджів під умовними назвами 1РФ, 2Н, 3І, 4Г, виділені зі спонтанної мікрофлори винограду сортів РФ-14, Новак, Ізабела та Горобчик (врожай 2015 р., Харківська обл). Для визначення спиртостійкості дріжджі культивували протягом 24 год при температурі (24±2) °С у рідкому середовищі Сабуро із додаванням 10 % спирту етилового. Для визначення стійкості дріжджів до низьких значень pH дріжджі культивували при температурі (24±2) °С 24 год у бульйоні Сабуро з pH 2,9. Для визначення холодостійкості дріжджі культивували у рідкому поживному середовищі у термостаті ТСО-80 при температурі (10±2) °С протягом 24 год, після чого кількість клітин визначали в лічильній камері Горяєва-Тома. Для підрахунку числа клітин спочатку камеру накривали покривним склом, притирали його до появи «кілець Ньютону». Потім суспензію дріжджів вносили в камеру. Підрахунок клітин починали

через 3-5 хв після її заповнення, коли клітини осіли та знаходяться в одній площині. Підрахунок проводили в 20 маленьких квадратах, по діагоналі. Кількість клітин в 1 мл досліджуваної суспензії визначали за формулою:

$$M = \frac{a \times 1000}{h \times S} \times n,$$

де М – число клітин в 1 мл суспензії, а – середнє число клітин у квадраті сітки, h – глибина камери, мм, S – площа квадрату сітки, мм^2, n – розведення початкової суспензії. Для визначення життєвої сили – це міра інтенсивності метаболічних процесів, яка визначається за допомогою тесту «сили підкислення». При цьому вимірювання значення позаклітинного pH дріжджової суспензії проводили до (протягом 10хв) і після додавання глюкози (протягом 20хв). Вважається, що зниження внутрішньоклітинного pH, яке викликано виділенням дріжджами йонів H^+, визначає фізіологічний стан дріжджів. Чим більше різниця між початковим та кінцевим значеннями pH, тим вища активність дріжджів [2, 4].

Результати і обговорення. На першому етапі експериментальних досліджень виділені раси дріжджів досліджували на стійкість до високих концентрацій спирту етилового, низьких значень pH та холодостійкість. Для цього чисті культури дріжджів вирощували за заданих умов 24 год, після чого визначали кількість клітин за допомогою лічильної камери. Результати проведених випробувань, представлені в таблиці 1, свідчать, що найбільша спиртостійкість властива зразкам 1РФ, 2Н, 3І. Тоді як дріжджі раси 4Г суттєво знизили кількість клітин на середовищі зі спиртом етиловим у порівнянні з контролем. Величина pH впливає на систему транспорту поживних речовин, дисперсність, на ступінь дисоціації компонентів середовища, просторову організацію та активність ферментний білків.

Оптимальною величиною pH для розмноження клітин дріжджів є 4,2-4,5, однак, pH виноградного соку дорівнює 3,5-4,1, а в процесі бродіння знижується до 2,7. Тому є важливим визначення стійкості дріжджів до низьких значень pH

є важливим етапом розробки технології червоного вина. Результати проведеного експерименту, представлені в таблиці 1, свідчать, що дріжджі зразків 2Н, 3І та 4Г не змінюють своєї здатності розмножуватися при низьких значеннях pH, тоді як дріжджі зразка 1РФ не є кислотостійкими. При визначенні холодостійкості, тобто здатності дріжджів розмножуватися за температури (10-14) °С було встановлено, що усі досліджувані зразки є холодостійкими, хоча кількість клітин в усіх дослідах суттєво менша за кількість клітин в контрольних пробах, що термостатувалися за оптимальних температурних умов.

Таблиця 1. Кількість дріжджових клітин при різних умовах культивування

Вид досліду	Кількість дріжджових клітин, шт/мл			
	1РФ	2Н	3І	4Г
Спиртостійкість	$(1,4\pm0,3)\cdot10^{8}$	$(2,2\pm0,5)\cdot10^{9}$	$(4,4\pm0,6)\cdot10^{9}$	$(1,3\pm0,4)\cdot10^{4}$
Кислотостійкість	$(1,5\pm0,5)\cdot10^{4}$	$(2,6\pm0,3)\cdot10^{9}$	$(4,8\pm0,4)\cdot10^{9}$	$(2,5\pm0,5)\cdot10^{9}$
Холодостійкість	$(2,5\pm0,3)\cdot10^{5}$	$(3,8\pm0,2)\cdot10^{5}$	$(3,8\pm0,4)\cdot10^{5}$	$(2,5\pm0,5)\cdot10^{5}$
Контроль	$(7,1\pm0,4)\cdot10^{8}$	$(6,2\pm0,1)\cdot10^{9}$	$(5,3\pm0,2)\cdot10^{10}$	$(3,1\pm0,5)\cdot10^{9}$

Примітка. $P\leq0,05$, n=5.

Стан посівного матеріалу – дріжджів, а саме життєвість, дуже важливий фактор для правильного ходу бродіння, яке забезпечує отримання вина необхідної якості. Тест сили підкислення – це метод, при якому вимірюється зниження значення позаклітинного pH дріжджової суспензії до (спонтанне зниження) та після додавання глюкози. Рівень першого зниження є індикатором вмісту глікогену, а другий – швидкості проходження гліколітичного шляху [5]. Результати проведеного експерименту, представлені на рисунку 1, свідчать, що найбільші значення «життєвої сили» характерні для зразків дріжджів 2Н та 3І.

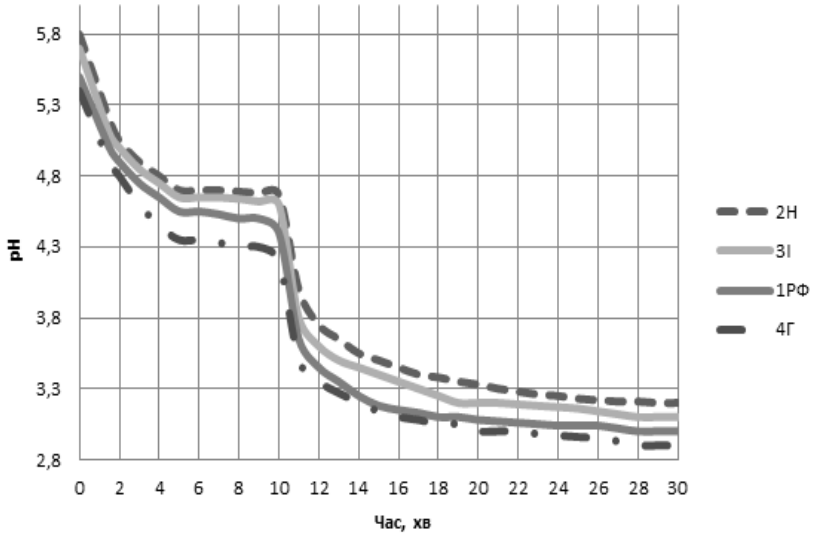


Рис. 1. Динаміка зміни величини pH суспензії дріжджів

Таким чином, можна зробити висновок, що кращими показниками спиртостійкості, кислотостійкості, холодостійкості та «життєвої сили» володіють раси дріжджів, що виділені зі стихійної мікрофлори столових червоних вин, отриманих з винограду сортів Новак та Ізабела.

Висновки. Результати проведених досліджень показали, що кращі значення спиртостійкості, кислотостійкості, холодстійкості та «життєвої сили» притаманні дріжджам, що виділені зі стихійної мікрофлори столових червоних вин, отриманих з винограду сортів Новак та Ізабелла, що буде враховано при розробці технології червоних столових вин з вітчизняної сировини.

Список літератури

1. *Валуйко Г.Г.* Виноградные вина. – М.: Пищевая промышленность, 2011. – 328 с.

2. *Бурьян Н.И.* Микробиология виноделия. – Ялта: Институт винограда и вина «Магарач» Украинской академии аграрных наук, 1997. – 431 с.

3. *Пількевич Н.*Б., Боярчук О.Д. Мікробіологія харчових продуктів: навч. посіб. для студ. вищ. навч. закладів. – Луганськ: Альма-матер, 2008. – 152 с.

4. Manual of industrial microbiology and biotechnology. 2nd ed. – Wash., 2009. -135 p.

Меледина Т.В., Давыденко С.Г., Васильева Л.М. Физиологическое состояние дрожжей: Учеб. пособие. – СПб.: НИУ ИТМО, ИхиБТ, 2013. – 48 с.

АНТИМІКРОБНА ДІЯ РОСЛИННОЇ ДОБАВКИ НА ОСНОВІ ЧАСНИКУ ЩОДО ДЕЯКИХ БАКТЕРІЙ

Наталя Корх, Світлана Тетеріна, Галина Сімахіна

Національний університет харчових технологій, м.Київ, Україна

Abstract. This article presents studies of the inhibition effect of non-conventional plantbased raw materials on microorganism test cultures. It was determined that the studied plant-based raw material shows clear antimicrobial properties against the test cultures. As such, this raw material may be recommended for use in compositions of processed meat products in order to increase their biological stability.

Key words: garlic, antimicrobial properties, meat products.

Вступ. Серед глобальних проблем нашого часу однією з найважливіших є забезпечення населення якісними продуктами харчування. Якість харчової продукції – це загальне поняття, що характеризується харчовою цінністю, а також еколого -гігієнічною безпекою − нешкідливою і доброякісною.

У сучасній м’ясопереробній промисловості чітко простежується тенденція до пошуку й розроблення інноваційних технологічних рішень для виробництва продукції, що характеризується високим рівнем якості, екологічності, біологічної безпеки, а також функціональністю [1].

М'ясо тварин і птиці містить мікроорганізми, які потрапляють в нього в внаслідок мікробного обнасінення тканин тварин до і після їх забою. Мікроорганізми, що знаходяться в м'ясі, активно розмножуються, оскільки цей продукт є гарним поживним середовищем для їх існування [2]. Тому важливо контролювати мікробіологічну безпечність м’яса. З усіх бактерій групи кишкових паличок найбільше санітарно-показове значення мають мікроорганізми роду *Escherichia,* адже більшість видів є збудниками тяжких токсикоінфекцій [5].

Якісний склад мікрофлори поверхні м’яса включає такі мікроорганізми, як: мікрококи, стрептококи, молочнокислі бактерії, а також спорові аеробні форми. На санітарну якість м’яса та м’ясних продуктів впливають як патогенні (сальмонели, ентеротоксичні стафілококи, гемолітичні стрептококи, спорові — *B. cereus*, клостридії — *C. botulinym, C. perfingens* та ін), так і умовно патогенні мікроорганізми (*Pfoteus vulgaris*, *E. coli*) – збудники зооантропонозів, харчових токсиноінфекцій і токсикозів [3]. Дуже часто псування м’яса та м’ясопродуктів спричинюють *Brocliotrix thermospacta*. Ці бактерії сприяють розкладанню протеїнів, жирів з утворенням неприємного запаху [1].

Сапрофітні мікроорганізми становлять технічно шкідливу мікрофлору, яка викликає псування продуктів при зберіганні. Ослизнення м'яса − вид псування охолодженого м'яса до кінця періоду зберігання. На поверхні з'являється суцільний слизовий наліт сірого і сіро-зеленого кольорів. Збудниками псування є в основному бактерії роду *Pseudomonas* і *Micrococcus*. Швидкість розвитку ослизнення залежить від вологості повітря, температури зберігання і рівня вихідної мікробного обсіменіння. Чим нижче температура і менше відносна вологість повітря, тим довше зберігається м'ясо без ознак псування [6].

Гниття настає при тривалому зберіганні охолодженого м'яса з ознаками ослизнення. При низькій температурі зберігання, близькою до 0°С, збудниками гниття в основному є психрофільні бактерії роду *Pseudomonas* і *Bacillus*. При підвищених температурах зберігання в м'ясі розвиваються мезофільні гнильні бактерії: паличка протея, бацили картопляно-сінної групи, клостридії. У процесі гниття відбувається руйнування білкових молекул і накопичення продуктів розпаду: аміаку, сірководню, фенолу, скатол, індолу, меркаптанів, первинних амінів, які володіють дуже неприємним запахом і отруйними властивостями [6]. Анаеробне розкладання поширюється в туші дуже швидко і починається всередині товстих шарів м'язів, поблизу кісток і суглобів і супроводжується газоутворенням. Відбувається накопичення газів між

волокнами і розрив зв’язків між ними. М'ясо набуває пористої структури, синьо-червоний або сіро-зелений колір, різкий запах [7].

Одним із шляхів зниження мікробного обнасінення сировини та підвищення біологічної цінності м'ясних продуктів є застосування натуральних антимікробних компонентів, які можуть замінити хімічні консерванти.

В якості альтернативи хімічним консервантам можна використовувати безпечні для людини сполуки природного імунітету рослин і тварин – біополімери, фітонциди і екстракти прянощів. Джерелом бактеріостатичних компонентів природного походження може бути вторинна сировина харчової промисловості, малоцінні і невикористовувані в їжу частини рослинної продукції. Фітонциди і фітоалексини – антибактеріальні речовини, які можуть бути виділені з ряду відомих рослин: часник (*Alliumsativum*), цибуля (*Alliumcepa*), гірчиця (*Sinapisalba*), хрін (*Armoraciarusticana*), редька (*Raphanussativus*) та ін. [2].

Сила і спектр антимікробної дії фітонцидів дуже різноманітні, вони можуть запобігати розвитку багатьох видів найпростіших, бактерій і нижчих грибів, тому добавки на основі рослинної сировини можна використовувати як інгібітори біохімічних і мікробіологічних процесів. Крім того рослинна сировина може бути додатковим джерелом біологічно цінних речовин підвищуючи тим самим функціональність готових продуктів. Проте рослинні добавки також можуть бути також джерелом контамінуючої мікрофлори, адже мікроорганізми є постійними супутниками не тільки людини і тварин, але і, в рівній мірі, вищих рослин, зокрема використовуваних, як біологічні добавки до продуктів харчування. Мікроорганізми можуть міститися, як на поверхні, так і всередині зелених частин рослин, їх коріння, насіння, плодів [4].

Отже, використання рослинної сировини в технології м'ясних продуктів поруч з позитивними моментами, підвищення біологічної цінності їжі та інгібуючим впливом на розвиток мікрофлори основної сировини для її виготовлення, може виступати додатковим джерелом мікроорганізмів, що

негативно може впливати, як на технологічний процес виробництва харчових продуктів так і на безпечність та біологічну стійкість готових продуктів харчування.

Матеріали і методи. На першому етапі досліджень проводили визначення мікробіологічних показників рослинної добавки на основі часнику (порошкоподібної висушеної зеленої маси рослини). Дослідження проводили методом послідовних десятикратних розведень вихідної сировини з наступним висівом на чашки Петрі з відповідним поживним середовищем. Посів на середовища проводили:

- для визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів (МАФАМ), а також спороутворювальних бактерій на щільне поживне середовище мясопептонний агар МПА, інкубування проводили за температури 37 ° С,

- для визначення у зразках кількості грибів і дріжджів на щільне поживне середовище сусло-агар, інкубування проводили за температури 30 ° С,

- для виявлення бактерій групи кишкових паличок (БГКП) проводили висів суспензії у пробірки з накопичувальним середовищем Кеслера оснащених скляними поплавками, інкубували посіви за температури 37° С протягом 2-х діб. У разі позитивної бродильної проби проводили пересів на диференційно-діагностичне середовище Ендо для подальшої ідентифікації,

- для виявлення мезофільних сульфітредукуючих клостридій проводили висів суспензії у пробірки з напіврідким селективно-діагностичним середовищем сульфітзалізним агаром розігрітим до температури 80 °С, інкубування проводили за температури 37 ° С при виявленні позитивних пробірок проводили приготування препаратів, фарбували за Грамом і мікроскопували.

На другому етапі проводили вивчення антимікробних властивостей рослинної добавки «Часник» щодо розвитку типових контамінантів м'ясної промисловості, в якості яких розглядали *Bacillus subtilis* БТ-2, *Pseudomonas* sp. і

Micrococcus albus. А також проводили вивчення інгібувальних властивостей добавки по відношенню до *Escherichia coli* ІЕМ – 1.

Для визначення антимікробних властивостей готували вихідні суспензії добових тест-культур. Потім суспензію кожної з тест-культур вносили у 4 пробірки (по 10 $см^3$) і додавали відповідно 0,01; 0,02; 0,05 та 0,1 г рослинної сировини, після чого витримували пробірки упродовж 2 годин за температури оптимальної для росту тест-культур (37 °С). Після експозиції за методом Коха визначали кількість живих клітин.

Виживання мікроорганізмів визначали, як відношення кількості живих мікроорганізмів в оброблених зразках до кількості живих мікроорганізмів у вихідній суспензії і виражали у відсотках.

Результати і обговорення. Окрім проведення кількісного визначення мікробіологічних показників (табл. 1), було проведено дослідження якісного складу мікробіоти досліджуваної сировини. Серед виявлених морфотипів переважають культури подібні за більшістю ознак до: бактеріальних *Micrococcus*, *Bacillus*, *Bacterium* та міцеліальних грибів роду *Aspergillus* і *Penicillium.*

Таблиця 1. Мікробіологічні показники рослинної добавки на основі часнику

Показники	Кількість виявлених морфотипів	Середній вміст мікроорганізмів, КУО/г		
		Спороутворювальні бактерії	МАФАМ	Міцеліальні гриби та дріжджі
Результат	11	$5,8\times10^3$	$4,5\times10^5$	$3,3\times10^2$
Нормативні вимоги	------	-----	5×10^5	1×10^3

Оскільки нормативні вимоги до такого виду сировини на даний час не затверджено, отримані результати порівнювали з показниками наведеними у стандарті на пряноші готові до вживання. Результати (табл. 1) свідчать про

значний вміст спороутворювальних бактерій, однак вищевказаним стандартом даний показник не нормується.

Слід відмітити, що в досліджуваних пробах БГКП та сульфітредукувальні клостридії не виявлено у 0,01 г, що відповідає заявленим у стандарті вимогам та свідчить про безпечність всіх досліджених зразків.

Встановлено, що досліджувана рослинна добавка на основі часнику виявляє виражену антимікробну дію по відношенню до обраних тест-культур (*рис.1*), зокрема виживання більшості культур не перевищує 20-ти%, а при збільшенні концентрації до 10 мг/мл – 5-ти%. Можна припустити, що технологічні методи, які використовувались для одержання даної рослинної добавки дозволили зберегти активність фітонцидів вихідної сировини.

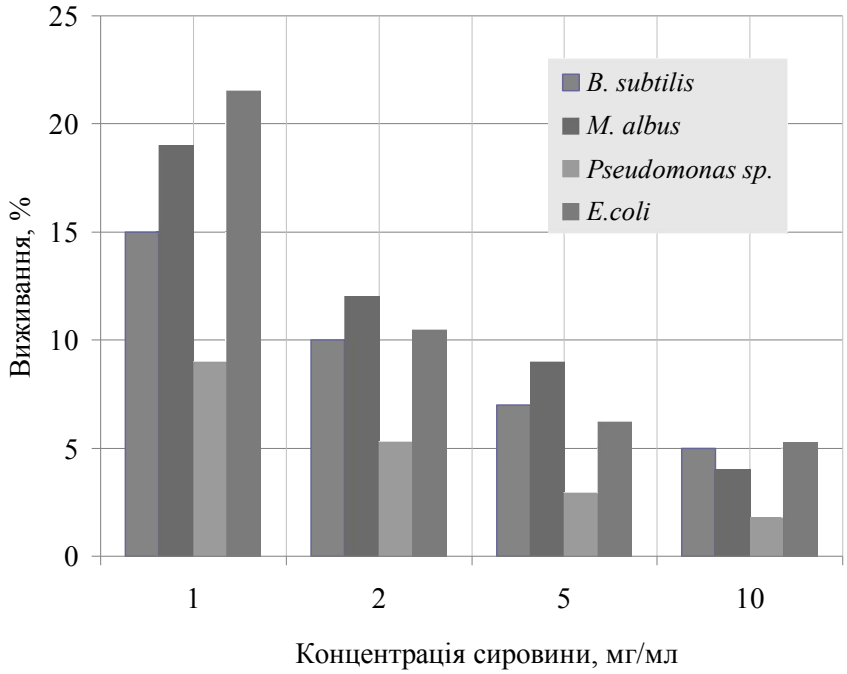


Рис. 1. Виживання тестових культур мікроорганізмів після внесення рослинної добавки на основі часнику

Висновки. Встановлено, що дослідні зразки рослинної сировини отримані із зелені часнику, за мікробіологічними показниками

характеризуються певним вмістом мікроорганізмів, що не перевищує нормативні вимоги.

Показано, що рослинна добавка на основі часнику виявляє виражену бактерицидну дію щодо обраних тест-культур.

Отже, на підставі проведених досліджень можна рекомендувати дану рослинну сировину для використання в якості збагачуючих добавок до харчових продуктів зокрема в технології м'ясних виробів, що сприятиме подовженню терміну їх придатності.

Список літератури

1. *Баль-Прилипко Л. В., Леонова. Б. І.* Біотехнології виробництва м'ясних продуктів. Сучасний стан // Biotechnologia Acta, V. 7, No 5, 2014

2. *Хлыбов Н.А., Бараненко Д.А*. Экстракция фитонцидов чеснока для увеличения микробиологической стабильности мясопродуктов при холодильном хранении // Науч. журн. НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2014. № 4. С. 222-229.

3. *Пирог Т.П., Решетняк Л.Р., Поводзинський В. М.*, Мікробіологія харчових виробництв. - Вінниця:Нова Книга, 2007. – 464с.

4. *Желдакова Р. А., Мямин В. Е*. Фитопатогенные микроорганизмы: Учеб.- метод. комплекс для студентов биол. фак. – Мн. : БГУ, 2006. – 116 с.

5. *Грегірчак Н.М*. Санітарно-гігієнічний контроль виробництва: Конспект лекцій з дисципліни "Мікробіологія і санітарно-гігієнічний контроль виробництва" для студ. напр. 051401 "Біотехнологія" ден. та заоч. Форми навч. – К.: НУХТ, 2011. – 175 с.

6. *Лузина Н.И*. Микробиология мяса и мясных продуктов: Учебное пособие/ Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. Кемерово, 2004. – 75с.

7. *Баль-Прилипко Л.В.* Технологія зберігання, консервування та переробки м'яса. Підручник – К., 2010 – 469 С.

НАУЧНО–ПРАКТИЧЕСКИЕ И СОЦИАЛЬНЫЕ ЗАДАЧИ В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМЫ ЭКОЛОГО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Афиля Курбанова, Эльза Омарова, Намик Рагимов, Мехрибан Юсифова

Азербайджанский Государственный Экономический Университет, г. Баку, Азербайджан

Аннотация. Рассмотрены некоторые важные вопросы, связанные с обеспечением населения полноценным, экологически и микробиологически безопасным продовольствием и питанием в отдельно взятом регионе (конкретнее, в условиях Азербайджана). Несмотря на достигнутые в настоящие время в развитых странах, в том числе в Азербайджане, успехи в научно-прикладных и социально-экономических разработках проблемы продовольствия и питания, остаются немало достаточно не решенные задачи в этой области.

Прежде всего, такие вопросы имеют место в международных системах экспорта и импорта пищевого сырья и продовольствия, в организации регионального и местного контроля в снабжении и торговле пищевых продуктов, в просвещении населения в русле высокой культуры питания.

Ключевые слова: эколого-микробиологическая безопасность, продовольствие, культура питания.

Введение. Отдельные страны или государства, кроме темпов культурного и научно-технического развития, характеризуются также уровнем роста населения и его благосостояния, организации и обеспечения микробиологической и экологической безопасности продовольствия, питания, и самое главное, здоровья народа.

В ряде странах мира, в Азербайджане в том числе, из года в год усиливается тенденция увеличения численности населения, и особенно детской

и юношеской контингенции, что ставит новые, более масштабные задачи перед их правительствами. В связи с этим, возникает необходимость предпринятия неотложных мер и требования в деле обеспечения нормальной репродуктивной функции, достаточных продовольственных ресурсов, полноценного и безопасного питания для численно растущего населения. Решение этих вопросов лежит особенно на плечах соответствующих экономических, сельскохозяйственных, здравоохранительных, научных и пищевых индустриальных структур каждого государства.

Бесспорно, что в достижении высокого уровня здоровья и других биосоциальных показателей народа, нормальное и регулярное питание играет особую роль [18]. Как указывают многие исследователи, потребность человека в пище во многом определяется естественной и социальной средой его обитания и физиологическим состоянием его организма, а подрастающее поколение, молодые люди, нуждается в большем количестве пищи, при том высокоэнергоемкой, чем взрослые. Надо учесть и того обстоятельство, что современный человек волей неволей «воспитывается» в духе всеядного и расточительного потребителя, он требует, что его питание было как можно многообразнее, и обязательно, своевременное.

Для того, чтобы выполнить такие притязания и желания теперешних людей, в распоряжении того или иного государства должны быть богатые природные пищевые ресурсы, многоотраслевые и высоко технологичные сельскохозяйственные мощности, передовая пищевая индустрия, которые были бы способны воспроизводить и реализовать как можно больше разнообразные пищевые продукты. Сегодня для этого довостребованы также, инновативные биотехнологии и методы генной инженерии, в результате чего создаются много новых высокопродуктивных гибридных или техничных форм продовольственного сырья и ингредиентов питания, что создают новые, дополнительные проблемы перед той или иной страны в решении вопросов

обеспечения физиологической пригодности, ценности и безопасности питания (12; 16; 22).

Материалы и методы исследования. Особая озабоченность в решении вопросов питания населения в нынешних условиях вызывает усиление загрязнения окружающей среды, продовольственного сырья и пищевых продуктов различными химикатами и микроорганизмами токсического действия [7; 15; 21; 25; 26]. Тревожно и то, что жизнь, трудовая деятельность и питание современного человека происходит в среде всевозрастающего соприкосновения с такими вредоносными факторами, и они приобретают весьма угрожающий и опасный характер для людей всех возрастов. Поэтому в нынешних условиях встает немало новых проблем перед соответствующими научно-исследовательскими учреждениями, здравоохранительными органами, санитарно-гигиеническими службами и госнадзора каждой конкретной страны. Ежегодная статистика Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) показывает, что в мире число людей, особенно среди детей, голодающих отравившихся от приема и токсичных питательных веществ, иногда достигает ужасающих количеств, и это наблюдается даже в развитых странах.

Химические и микробиологические факторы, опасные для здоровья человека, окружающей среды, качества продовольствия и пищи в настоящее время стали настолько многообразными, что определение и классификация их токсичность, дело не простое. А выявление их в пищевых продуктах, прогнозирования их реальной опасности и разработка мер защиты от их воздействия, сегодня стала весьма актуальной задачей, стоящей перед учеными и специалистами, работающими в области пищевой индустрии. Высока ответственность также государственных структур, непосредственно причастных к делу охраны здоровья населения собственной страны.

Результаты и обсуждение. Нельзя не отметить, что за последние десятилетия, в ряде странах, особенно в России, в том числе в Азербайджане, эколого-микробиологические исследования по изучению

вопросов безопасности продовольственного сырья и продуктов питания, развиваются более успешно по двум главным направлениям. Первое, это выяснение естественных, а также производственных источников и причин заражения зерна и хлебных продуктов вредоносными, токсичными, микроорганизмами, грибками и химическими агентами, и принятие соответствующих санитарно-гигиенических и эпидемиологических мер против этой опасности. Второе, это эколого-микробиологические исследования по биологической и химической безопасности мясных и молочных продуктов, что особенно актуальна в связи возможностью роста случаев пищевого отравления. По обоим направлениям в настоящее время ведутся широкие фундаментальные научные исследования, имеющие большое прикладное значения. А их проведения в сопряжении с санитарно-гигиеническими наблюдениями и мероприятиями, безусловно, повысить практическую эффективность решения общих вопросов пищевой токсикологии [6; 10; 14; 17].

В наших предыдущих и в совместных с другими авторами работах [1; 2; 3; 5; 18; 21], мы особо подчеркнули большую научно-практическую значимость разработки более рациональных продуктов и методов исследования в области определения, классификации и оценки опасности различных микробиотов, способных заражать зерна, муку, мясо и т.д., и вызывать порчи и токсичность в хлебных, мясных и других продуктах питания. Примечательно, что в этом направлении за последние годы не мало ценных научных работ были проведены усилиями российских исследователей [6; 10; 15; 17; 20; 19; 26]. Новые подходы и методы в микробиологических исследованиях продовольственного сырья и продуктов питания они осуществляют в масштабах всей Российской Федерации, и это очень важно, в отдельных её регионах тоже [9; 11; 13; 22; 23].

Много внимание уделяют и азербайджанские исследователи-микробиологии и экологи к вопросам изучения проблем химической, биологической и экологической безопасности продовольствия и питания в нынешних условиях развития Азербайджана [3; 4; 5; 14; 21; 25]. Наша страна в настоящее время успешно развивается в сферах экономики, благоустройства, производственной технологии, культуры, обеспечения населения собственным продовольствием и экологически более чистыми продуктами питания. Там не менее и здесь остаются не мало пробел в области обеспечения и соблюдения высоких санитарно-гигиенических норм в производстве, хранении, транспортировке, обработке и торговле пищевого сырья и продуктов питания. Да и общественный надзор со стороны наших потребителей не так высок как это требуется в настоящее время. Эти и другие вопросы, связанные с решением проблемы продовольствия, биологической и химической безопасности пищи, обеспечения населения полноценным питанием, улучшения санитарно-гигиенического состояния в местных предприятиях пищевой промышленности, не раз обсуждали у нас на уровне правительственных, научных и общественных кругов.

Очередным примером тому, состоявшаяся в Баку, столице Азербайджана, международная конференция с участием официальных представителей Комитета Продовольствия и Сельского хозяйства ООН (ФАО), зарубежных ученых и специалистов по вопросам питания, руководителей и ответственных лиц республиканских министерств экологии и охраны природы, сельского хозяйства, здравоохранения, предприятий пищевого сектора, ученых Академии Наук и ряда Университетов Азербайджана.

На этом форуме его участники широко обсуждали возникшие и дающие о себе знать в последние годы новые и более серьезные вопросы в проблемах обеспечения безопасности продовольствия и продуктов питания

в нынешних условиях, как в мировом, так и в региональных масштабах. Особая озабоченность проявили они и в связи с возрастанием опасности для здоровья населения модифицированных пищевых продуктов, получаемых с помощью внедрения в сельхозпрактику и систему Агропарков новых биотехнологий и методов генной инженерии, не своевременным решением ряда вопросов экологической чистоты окружающей среды.

Само собой разумеется, что новые направления в научно-техническом прогрессе в современных условиях ставят свои отпечатки и на вопросы питания современного человека.

Необходимо также как на академическом, так и на кафедральном уровне, нам нужны более централизованные и эффективные усилия в научных исследования вопросов безопасности, гигиены и культуры питания. В деле просвещения среди общества культуру питания наши ученые – специалисты должны по-новому представить и пропогандировать проблемы и знания по защите людей от голодания, и недоедания, пищевых отравлений заболевания, вопросы обеспечения их полноценным и безопасным питанием. Как в научной, так и в практической деятельности академически отраслевые ученые и специалисты Азербайджана все-таки делают всё от них зависящие в решении вопросов биологической и химической безопасности питания среди населения.

Выводы. Обществу в любой стране, в Азербайджане также, нужно не только достаточное, но и безвредное, нетоксичное питание, которое прямо или косвенно зависит от того, насколько соблюдают и эффективны госнадзор и научная оценка в системах и механизмах обеспечения продовольствием и продуктами питания широкого населения. Очевидно, что в нынешних условиях, для нормального жизнеобеспечения населения особо строгий микробиологический и санитарно-гигиенический контроль необходим по всем звеням продовольствия производства и реализации и

прочих продуктов питания, их импорта и экспорта в системах и механизмах регионального местного снабжения источниками пищи.

Список литературы

1. Ализаде К.С., Магеррамова М.Г., Курбанова А.А. и др. Оценка продуктов пищевого назначения по микробиологическим показателям // Вестник МГОУ, сер. «Естественные науки», 2011, №4, с: 30-33

2. Юсифова (Гезалова) М.Р., Ильясова М.Х., Магеррамова М.Н., Гаджиева Н.С. Характеристика по микробиотосу и химическому составу некоторых зерновых культур, выращиваемых в Азербайджане // Труды Института Микробиологии НАН Азербайджана, Баку, Изд-во «Эльм», 2013, №2, с. 6-11 (на азерб. языке).

3. Ализаде К.С., Магеррамова М.Н., Курбанова А.А. и др. Пищи растительного происхождения и микробиологические аспекты оценки их безопасности // Труды Института Микробиологии НАН Азербайджана, Баку, Изд-во «Эльм», 2011, №2, с. 52-56 (на азерб. языке).

4. Ализаде К.С., Зулфигарова А.Г., Магеррамова М.Н. Общая характеристика микробиотаса некоторых продуктов питания растительного и животного происхождения используемых в Азербайджане // Труды Института Микробиологии НАН Азербайджана, Баку, Изд-во «Эльм», 2013, №1, с. 47-52 (на азерб. языке).

5. Мурадов Р.З. Основы конверсии растительных субстратов // Баку, Изд-во «Эльм», 2003, 114 с.

6. Афанасьева О.В. Микробиология хлебопекарного производства. СПб: Береста, 2003 221 с.

ОЦІНКА БІОЛОГІЧНОЇ ЦІННОСТІ РИБНИХ ПАСТ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ІНФУЗОРІЇ *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

Аліна Менчинська

Національний університет біоресурсів та природокористування України, м. Київ, Україна

Тетяна Лебська

Київський національний торговельно-економічний університет, м. Київ, Україна

Abstract. Investigated the biological value of fish paste using ciliary ciliate Tetrahymena pyriformis. Bioassay results indicate a high biological value developed samples of fish products.

Key words: bioassay, pasta, ciliates, the relative biological value.

Вступ. В останні роки у технології харчової продукції велика увага приділяється розробці харчових продуктів, що володіють високою біологічною цінністю. В цьому сенсі значний інтерес представляють пастоподібні рибні продукти. Вони являють собою зручну структурно-агрегатну модифікацію для створення продуктів заданого складу, збалансованих за головними інгредієнтами та збагачених біологічно активними речовинами Технологія паст дозволяє комплексно використовувати сировину та одержувати комбіновані продукти з високою харчовою і біологічною цінністю.

Зміни сировинної бази, видового складу рибної сировини, розвиток прісноводного рибництва вносять свої корективи в технології виробництва харчової продукції. Перспективним стає створення продуктів харчування на базі доступної вітчизняної сировини – ікри та м’яса прісноводних риб.

Ікра риб – цінний харчовий продукт, багатий легкозасвоюваними білками, з повним спектром незамінних і замінних амінокислот. Оскільки

ікорна сировина являє собою природний комплекс, що володіє високою харчовою та біологічною цінністю, ікра може бути використана в якості основи для створення полікомпонентних паст високої біологічної цінності.

Біологічна цінність харчових продуктів визначається їх здатністю забезпечувати фізіологічні потреби організму людини в енергії та основних поживних речовинах.

На сьогоднішній день серед методів визначення біологічної цінності все більш широкого застосування набувають методи, які зручно проводити у лабораторних умовах. До них відносяться методи із використанням в якості тест-об'єкту найпростіших організмів, зокрема інфузорії *Tetrahymena pyriformis*.

Біотестування на інфузоріях застосовували для визначення біологічної цінності білкового компоненту м'яса і м'ясних продуктів, консервів для дитячого харчування [1–4]. Для визначення біологічної та харчової цінності продуктів з гідробіонтів за допомогою даних найпростіших мікроорганізмів досліджували консерви з кукумарії [5]. Також *Tetrahymena pyriformis* застосовувались при визначенні біологічної цінності та безпечності рибної ікри [6, 7]. Знайшли застосування дані методи і в технології рибних пастоподібних продуктів при визначенні біологічної цінності пробіотичних паст з сировини морського генезису [8].

Мета роботи полягала в оцінці біологічної цінності пастоподібних рибних продуктів із застосуванням війчастої інфузорії *Tetrahymena pyriformis*.

Матеріали і методи дослідження. Матеріалами дослідження являлись зразки пастоподібних продуктів – паста «Закусочна» і паста «Ікринка», рецептурний склад яких наведений в таблиці 1.

Відносну біологічну цінність визначали шляхом біотестування з використанням війчастої інфузорії *Tetrahymena pyriformis*. При застосуванні інфузорії отримують шкалу відносної біологічної цінності, порівняну з

біологічним індексом якості білка у дослідах на тваринах. Відносна біологічна цінність визначається кількістю азоту, що утримана тест-організмом для його росту і розмноження. Критерієм відносної біологічної цінності при застосуванні війчастої інфузорії *Tetrahymena pyriformis* є кількість клітин, що виросли за певний проміжок часу в 1 мл поживного середовища. Отриманий результат порівнюють з кількістю клітин, що виросли на середовищі з додаванням стандартного білку. Як еталон використовували поживне середовище з казеїном.

Таблиця 1. Рецептурний склад паст

Інгредієнти	Кількість інгредієнтів, необхідних для виробництва пасти, %	
	«Закусочна»	«Ікринка»
Фарш товстолобика солений пастеризований	15	-
Ікра сазана солена пастеризована	-	40
Ікра товстолоба солена пастеризована	40	-
Ікра мойви солена	-	15
Морква	-	9
Буряк	7	-
Цибуля	1,5	-
Олія соняшникова рафінована	30	30
Сіль кухонна сорт «Екстра»	3	3
Цукор	1,5	1
Оцет яблучний	2	1
Гірчиця харчова	-	1
Разом:	100	100

Результати та обговорення. Результати досліджень відносної біологічної цінності паст на основі ікри прісноводної риби наведені в таблиці 2.

Таблиця 2. Біологічна цінність паст на основі ікри прісноводної риби

Назва зразку	Кількість клітин, кл/мм^3	Відносна біологічна цінність, % до еталону*
Контроль	357,21	100
Паста «Закусочна»	334,48±4,12	93,63
Паста «Ікринка»	345,45±5,51	96,7

n=5 P ≤ 0,05

Результати досліджень свідчать про те, що на поживному середовищі з пастою «Ікринка» виросла кількість мікробних клітин (345,45 кл/мм^3), яка наближається до цього показника у контрольного зразку, тобто на середовищі з додаванням стандартного білку казеїну. Розрахунок показника відносної біологічної цінності підтвердив ці результати досліджень і свідчить про більшу відносну біологічну цінність білку пасти «Ікринка» у порівняні зі пастою «Закусочна». Така різниця може бути обумовлена рецептурним складом рибних паст. Так, паста «Ікринка» була сформована тільки з ікри прісноводної та морської риби, а паста «Закусочна» - з включенням до 15 % фаршу з соленого м'яса товстолобику. Однак, різниця між досліджуваними пастами була не суттєва, тому слід стверджувати, що пасти на основі ікри та м'яса прісноводної риби характеризуються високими показниками біологічної цінності білку.

Висновки. Встановлено високу біологічну цінність білку різних рецептур паст на основі ікри та фаршу з м'яса прісноводної риби товстолобику на підставі біотестування із застосуванням війчастої інфузорії *Tetrahymena pyriformis*.

Доведено, що паста «Ікринка» характеризується вищою біологічною цінністю порівняно з пастою «Закусочна», що пояснюється присутністю у її складі ікри прісноводної риби товстолобику та морської - мойви.

Список літератури

1. *Сафонова В. Ю.* Санитарная и биологическая оценка свежей говядины, полученной от облученных животных / В. Ю.Сафонова // Вестник ОГУ. – 2008. – №81 – С. 117 – 122.

2. *Долгов В. А.* Применение инфузорий Тетрахимена пириформис для оценки качества и безопасности продуктов птицеводства / В. А Долгов // Птица и птицепродукты. – 2014. – №6 – С. 50 − 52.

3. *Дудчик Н. В., Мельникова Л. А*. Новый метод определения относительной биологической ценности белкового компонента пищевых продуктов / Н.В. Дудчик, Л.А. Мельникова // Достижения медицинской науки Белоруссии. – 2005. – № 2. – С. 65 – 69.

4. *Evans E, Carruthers S.* Comparisons of methods used for estimating the growth of Tetrachymena pyriformis / E Evans, S. Carruthers // J. Sci. Food and Agr. − 1978. − Vol. 29, № 8. − P. 703−707.

5. *Шульгин Ю. П.* Биологическая оценка качества консервов из кукумарии японской, обогащенных соевым белком / Ю. П Шульгин // Вестник ТГЭУ. – 2005. – №1 – С. 69 – 73

6. *Штанько Т. И.* Разработка технологии икры лососевой зернистой с использованием молочной сыворотки : автореф. дис. на соиск. уч. степ. канд. техн. наук. : спец. 05.18.04 «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств» / Татьяна Ивановна Штанько – Владивосток, 2012. – 25 с.

7. Воробьев В. В. Разработка экспресс-методов определения безопасности икорной и рыбной продукции // Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промысловое и техническое использование : матер. v Всеросс. науч.-техн. конф. – Петропавловск-Камчатский: : КамчатГТУ, 2014 – С. 41 − 46.

8. *Журавлева С. В., Прокопец Ж. Г.* Биологическая и пищевая ценность пробиотических пастообразных продуктов из сырья морского генеза / С.В. Журавлева, Ж.Г. Прокопец // Техника и технология пищевых производств. − 2012. − № 4 – С.1 – 5.

MICROCOMMENTARY: DEVELOPMENT OF A METHOD TO DETERMINE THE EFFECTIVENESS OF CLEANING AGENTS IN REMOVAL OF BIOFILM DERIVED SPORES IN MILKING SYSTEM

Ievgeniia Ostrov

Department of Food Quality and Safety, Institute for Postharvest Technology and Food Sciences, Agricultural Research Organization (ARO), the Volcani Center, Rishon LeZion, Israel

Biofilm Research Laboratory, the Hebrew University-Hadassah, Jerusalem, Israel

Abstract. In order to ensure the optimal level of equipment hygiene in the dairy industry, it is necessary to determine the biofilm removal efficiency of cleaning agents used for cleaning-in-place procedures. A recent study by Ostrov and coworkers has established a cleaning-in-place model system to evaluate the effectiveness of cleaning agents in removal of biofilm derived spores from the surfaces of milking equipment. The authors have introduced several important upgrades into their method compared to previous studies in order to closely simulate actual dairy farm/plant conditions. The developed model system provides quantitative evaluation of the effectiveness of cleaning and disinfecting agents and their cleaning/disinfecting effect on removal of biofilm derived spores.

Keywords: biofilms, bacterial cells, *Bacillus subtilis*.

Bacterial contamination represents an acute problem in the sphere of quality, functionality and safety of dairy products. When contamination of dairy products occurs evidence suggests that biofilms on the surfaces of milk processing equipment are a major source [2, 7, 17]. Biofilms are highly structured multicellular communities, which allow bacteria to survive in hostile environments [8]. The cells often produce exopolymeric substances that surround and protect the bacteria [7, 13, 22]. Bacterial cells in biofilms are characterized by increased resistance to

unfavorable environmental conditions, antimicrobial and cleaning agents [14, 16, 17]. Therefore, biofilms represent continuous microbiological problem in the dairy industry [3, 9, 16, 18].

Biofilm control in dairy manufacturing plants generally involves a process called cleaning-in-place (CIP**),** that represents the circulation of cleaning solutions through the plant under conditions of increased turbulence and flow velocity. CIP regimes in the dairy industry include regular cleaning of processing equipment, usually with alkaline and acidic liquids at high temperatures [7]. Nevertheless, the limitation of CIP procedures is accumulation of microorganisms on the equipment surfaces and formation of biofilm that is very difficult to remove by subsequent cleaning and disinfecting cycles [7, 14].

In order to ensure the optimal level of equipment hygiene in the dairy industry it is necessary to determine the removal efficiency of cleaning solutions used for CIP procedures towards surface attached microorganisms [2, 13, 20]. Therefore, there is a need to establish a standard method for evaluating and comparing the efficiency of cleaning agents used in CIP-procedures under realistic conditions of the dairy industry [21].

Recent study by Ostrov *et al* [12] has established a model system to determine the effectiveness of cleaning agents in removal of surface attached bacteria in milking system. The system is based on *Bacillus subtilis* spores surrounded with exopolymeric substances produced by bacteria during biofilm formation. The spores (defined as biofilm derived) were harvested from biofilm colonies of *B. subtilis* generated on biofilm promoting medium LBGM [19] and applied onto removable sampling plates from the stainless steel in order to simulate surface attached bacteria [12].

On purpose to simulate conditions characteristic for the milking systems during cleaning procedures Ostrov *et al* used the CIP-model system which was designed to resemble farm conditions as closely as possible. The system was fitted with the test rig with removable sampling plates (with surface applied spores), attached to the end

of T-junctions that protruded 35 to 275 mm from the main loop in order to reflect different degrees of cleaning difficulty (characteristic for dairy equipment). The hypothesis of the authors was that the level of cleaning difficulty is inversely proportional to the length of T-junctions. The duration and parameters of the cleaning tests were similar to those used during CIP procedures in milking systems [12].

In their study the authors report that they used the developed system to evaluate mechanical effect of water circulation (the mechanical cleaning effect brought about by the flow of liquid in the installation) and additional chemical/biological effect (the difference in cleaning effect between water and a cleaning agent) of commercial cleaning agents towards biofilm derived spores. The authors found that efficiency of spores removal was inversely proportional to the length of T-junctions: from 1.8 reduction in spore counts for the shortest T-junction to 0.7 log reduction to the longest one after cleaning with water, while chemical/biological effect of the tested agents constituted additional 0.5-2 log reduction compared to mechanical effect of water circulation [12].

Ostrov *et al* have further performed evaluation of the cleaning/disinfecting effect of cleaning agents towards biofilm derived spores (whether cleaning effect of tested agents is caused by killing the spores or removing them from the surfaces of sampling plates). The authors evaluated disinfecting effect of the agents as their ability to reduce the number of viable spores during incubation in closed tubes at conditions simulating those in the CIP-model system. Cleaning effect was calculated as the difference between the total chemical /biological effect (determined in the CIP system; taken as 100%) of the tested agent and its disinfecting effect [12].

To support the assumption that biofilm derived spores are surrounded with extracellular matrix which may provide a protection, Ostrov *et al* evaluated mechanical effect of water circulation towards the spores produced by mutant strains of *B. subtilis* (*ΔepsH* – a mutant that cannot produce exopolysaccharide component of extracellular matrix and Δ*abrB* – a mutant that overproduces extracellular matrix). According to their results it was much easier to remove the spores of *ΔepsH* mutant

compared to the wild type, while there was a notable decrease in reduction of viable spore counts for Δ*abrB*. These results indicate that the presence of extracellular matrix is an important factor responsible for high levels of cleaning difficulty of biofilm derived spores [12].

Previous studies have suggested different methods to determine the effectiveness of cleaning agents in removal of biofilm as well as surface attached spores [2, 5,10, 11, 14, 21] However, the study performed by Ostrov *et al* introduced several important upgrades. First of all, the model that simulates surface attached bacteria is based on biofilm derived spores of *B. subtilis* surrounded with extracellular matrix. Several previous studies investigated cleaning efficiency during CIP procedures [5, 11, 21] using *Bacillus* spores as a model, because of their high adherence to various materials [3] and their resistance to heat and chemicals [4, 15]. However, spores used for previous models were not biofilm derived and therefore were not surrounded by extracellular matrix of biofilm origin. The major impact of biofilms into contamination of dairy products was previously emphasized [7]. It was demonstrated that biofilms of *Bacillus* species may contain both vegetative bacteria and spores [6, 23] suggesting that biofilms would be a significant source of food contamination with spores. Moreover, it could be more problematic to eliminate biofilm derived spores compared to spores of non-biofilm origin due to the presence of extracellular matrix that offers additional protection [1] and might enhance resistance to cleaning procedures.

Some of the previous studies used actual biofilm generated in milk [2, 13] to simulate dairy biofilm. In these studies cleaning tests were performed in small scale pilots in laboratory conditions simulating CIP procedures. However, it would be hard to generate "standard" biofilm (containing approximately the same number of live cells in different technical and biological repeats) for real scale CIP system which would make cell quantitation and therefore evaluation of cleaning efficiency rather complicated. Unlike actual biofilms it is possible to

generate a large batch of biofilm derived spores and to store it for long periods of time. Such spores are easy to generate and quantify.

Another important upgrade of the study is the establishment of the real scale CIP model system that simulates different levels of cleaning difficulty characteristic for the milking systems. It is known that dairy equipment has areas (milk meters, clusters, dead ends, joints, valves and gaskets) [2] in which the flow of liquid is much less turbulent. Such "dead legs" might represent higher levels of cleaning difficulty compared to other sites of dairy equipment. Therefore in order to evaluate efficiency of cleaning agents at realistic conditions it is necessary to imitate high levels of cleaning difficulty. Ostrov *et al* simulated different levels of cleaning difficulty in their CIP system by using T-junctions of different length as a model of "dead legs" in actual dairy equipment. The results of their study show that the developed system succeeded to simulate different levels of the cleaning difficulty and enabled proper evaluation of effectiveness of cleaning agents at realistic conditions.

The authors have also developed an approach to evaluate the cleaning/disinfecting effect of cleaning agents towards biofilm derived spores. The necessity of determining whether chemical/biological effect of cleaning agents is due to killing bacteria (disinfecting effect) or to removing them from the surfaces of dairy associated equipment (cleaning effect) was previously emphasized as rapid recovery of biofilms after disinfectant treatment is often observed [7, 9, 13].

Likewise, the results presented by Ostrov *et al* indicate that the presence of extracellular matrix is an important factor responsible for high levels of cleaning difficulty of surface attached bacteria/spores.

The work by Ostrov *et al* establishes the method to determine the effectiveness of cleaning agents in removal of surface attached bacteria in milking systems that could be used as standard one in the dairy industry. Also the developed CIP system could be used to determine resistance mechanisms of

surface attached bacteria/spores towards cleaning/disinfecting procedures, testing antibiofilm approaches (e.g. antibiofilm coatings), designing and testing novel cleaning and disinfecting agents.

References

1. Branda S.S., González-Pastor J.E., Ben-Yehuda S., Losick R., Kolter R. Fruiting body formation by *Bacillus subtilis* // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2001. – 98. – P. 11621–11626.

2. Bremer P.J., Fillery S., McQuillan A. J. Laboratory scale Clean-In-Place (CIP) studies on the effectiveness of different caustic and acid wash steps on the removal of dairy biofilms // Int. J. Food Microbiol. – 2006. – 106. – P. 254–262.

3. Faille C., Fontaine F., Bénézech T. Potential occurrence of adhering living *Bacillus* spores in milk product processing lines // J. Appl. Microbiol. – 2001. – 90. –P. 892–900.

4. Faille C., Jullien C., Fontaine F., Bellon-Fontaine M. N., Slomianny C., Bénézech T. Adhesion of *Bacillus* spores and *Escherichia coli* cells to inert surfaces: role of surface hydrophobicity // Can. J. Microbiol. –2002.– 48. – P. 728–738.

5. Faille C., Bénézech T., Blel W., Ronse A., Ronse G., Clarisse M., Slomianny, C. Role of mechanical vs. chemical action in the removal of adherent *Bacillus* spores during CIP procedures // Food Microbiol. – 2013. – 33. – P. 149–157.

6. Faille C., Bénézech T., Midelet-bourdin G., Lequette Y., Clarisse M., Ronse G., Ronse A., Slomianny C. Sporulation of *Bacillus* spp. within biofilms: A potential source of contamination in food processing environments // *Food Microbiol.* – 2014. – 40. – P. 64–7.

7. Flint S.H., Bremer P.J., Brooks J.D. Biofilms in dairy manufacturing plant description, current concerns and methods of control // Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research. – 1997. –V. 11, №.1. – P. 81–97

8. Hall-Stoodley L., Costerton J. W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases // Nat. Rev. Microbiol. – 2004. – V.2, № 2. – P. 95–108.

9. Kumar C.G., and Anand S.K. Significance of microbial biofilms in food industry: a review // Int. J. Food Microbiol. –1998. – 42. – P. 9–27.

10. Leliévre C., Antonini G., Faille C., Bénézech T. Cleaning-in-place, Modelling of cleaning kinetics of pipes soiled by *Bacillus* spores assuming a process combining removal and deposition // Food and Bioproducts Processing. – 2002. – 80. – P. 305–311.

11. Leliévre C., Legentilhomme P., Legrand. J., Faille C., Bénézech T. Hygenic design: Influence of the local wall shear stress variations on the cleanability of a three-way valve. // Trans IChemE. – 2003. – 81 (A). – P.1071–1076.

12. Ostrov I., Harel A., Bernshtein S., Steinberg D., Shemesh M. Development of a method to determine the effectiveness of cleaning agents in removal of biofilm derived spores in milking system // Front. Microbiol. – 2016. – 7:1498. doi: 10.3389/fmicb.2016.01498

13. Parkar S.G., Flint S.H., Brooks J.D. Physiology of biofilms of thermophilic bacilli—potential consequences for cleaning // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. – 2003. – 30. – P. 553–560.

14. Peng J.S., Tsai W.C., Chou C.C. Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent // Int. J. Food Microbiol. – 2002. – 77. – P.11–18.

15. Ryu J.H., and Beuchat L.R. Biofilm formation and sporulation by *Bacillus cereus* on a stainless steel surface and subsequent resistance of vegetative cells and spores to chlorine, chlorine dioxide, and a peroxyacetic acid-based sanitizer // J. Food Prot. – 2005. – P. 2614–2622.

16. Shaheen R., Svensson B., Andersson M.A., Christiansson A., Salkinoja-Salonen M. Persistence strategies of *Bacillus cereus* spores isolated from dairy silo tanks // Food Microbiol. – 2010. – 27. – P. 347–355.

17. Sharma M., and Anand S.K. Biofilms evaluation as an essential component of HACCP for food/dairy processing industry – a case // Food Control. – 2002a. – 13. – P. 469–477.

18. Sharma M., and Anand S.K. Characterization of constitutive microflora of biofilms in dairy processing lines // Food Microbiol. – 2002b. – 19. – P. 627–636.

19. Shemesh M., and Chai Y. A combination of glycerol and manganese promotes biofilm formation in *Bacillus subtilis* via histidine kinase KinD signaling // J. Bacteriol. – 2013. – 195. – P. 2747–2754.

20. Simoes M., Simoes L.C., Vieira M.J. A review of current and emerging control strategies. // LWT - Food Science and Technology. – 2010. – 43. – P. 573–583.

21. Sundberg M., Christiansson A., Lindahl C., Wahlund L., Birgersson C. Cleaning effectiveness of chlorine-free detergents for use on dairy farms // J. Dairy Res. – 2011. – 78. – P. 105–110.

22. Vlamakis H., Chai Y., Beauregard P., Losick R., Kolter R. Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way // Nat. Rev. Microbiol. – 2013. – 11. – P.157–168.

23. Wijman J. G., de Leeuw P.P., Moezelaar R., Zwietering M.H., Abee T. Air-liquid interface biofilms of *Bacillus cereus*: formation, sporulation, and dispersion // Appl. Environ. Microbiol. – 2007. – 73. – P. 1481–1488.

ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ РЕГУЛЯЦІЇ СИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMB AC-5017 І *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241

Тетяна Пирог

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ, Україна

Тетяна Шевчук

Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ, Україна

Abstract. After addition into medium cultivation of *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 of Fe^{2+}, necessary for the functioning alkane hydroxylase, increasing to 35 mM of Na^{+} content (activator $NADP^{+}$- dependent aldehyde dehydrogenase), decreasing to 1 mM concentrations of K^{+} (inhibitor of this enzyme) amount of synthesized on n-hexadecane surfactants increased in 4 times. Decreasing to 1 mM in medium cultivation of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 of K^{+} concentration (inhibitor PQQ-dependent alcohol- and acetaldehyde dehydrogenase and surfactant biosynthesis enzymes) and increasing up to 10 mM ammonia nitrogen content (activator of these enzymes) by replacing potassium nitrate on equimolar urea nitrogen concentration was accompanied by increase in 2 times of concentration of synthesized on ethanol surfactants.

Key words: surfactants, activators and inhibitors of enzymes, intensification of biosynthesis

Вступ. Останніми роками мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) є об’єктом інтенсивних теоретичних і прикладних досліджень, що зумовлене їх можливим практичним використанням у різних галузях промисловості, а також у природоохоронних технологіях для очищення довкілля. Перевагами мікробних ПАР порівняно з хімічними аналогами є біодеградабельність,

нетоксичність, постійність фізико-хімічних властивостей у широкому діапазоні pH і температури [1]. Незважаючи на комерційно привабливі властивості мікробних ПАР та їх значні переваги порівняно з синтетичними аналогами, факторами, що стримують впровадження технологій мікробних ПАР у світі є високі витрати на біосинтез (сировина, енергетика), виділення та очищення цільового продукту, а також недостатньо висока концентрація синтезованих ПАР.

Одним із підходів до підвищення ефективності технологій мікробного синтезу є виявлення на основі аналізу метаболізму ростового субстрату можливих сайтів метаболічного лімітування і/або активаторів (інгібіторів) ключових ферментів метаболізму з наступною відповідною модифікацією складу поживного середовища [2].

Мета даної роботи. Інтенсифікація синтезу ПАР на основі дослідження особливостей метаболізму невуглеводних субстратів у продуцентів цих сполук *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 і *Acinetobacter calcoaceticus* B-7241.

Матеріали та методи. *A. calcoaceticus* IMB B-7241 і *R. erythropolis* IMB Ac-5017 вирощували урідкому мінеральному середовищі (г/л): KNO_3 – 1,0; NaCl – 1,0; Na_2HPO_4 – 0,6; KH_2PO_4 – 0,14; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,1, pH 6,8–7,0. В одному з варіантів нітрат калію у середовищі було замінено на еквімолярні за азотом концентрації $NaNO_3$; NH_4Cl; NH_4NO_3 і $(NH_2)_2CO$.

Як джерело вуглецю і енергії використовували етанол і гексадекан у концентрації 1–2 % (об'ємна частка).

Концентрацію ПАР визначали ваговим методом після екстракції сумішшю Фолча (хлороформ : метанол – 2:1) з наступним випарюванням розчинника під вакуумом (40 ºС). Для кількісної експрес-оцінки вмісту поверхнево-активних речовин у культуральній рідині використовували показник умовної концентрації ПАР (ПАР*). Для визначення ПАР* будували графік залежності σ_s від логарифму розведень. Абсциса точки перетину дотичних до кривої відповідає умовній концентрації ПАР та виражається в умовних одиницях.

Індекс емульгування (E_{24}, %) визначали з використанням як субстрату соняшникової олії.

Визначення активності ферментів здійснювали у безклітинних екстрактах (клітини руйнували ультразвуком, одержаний дезінтеграт центрифугували, супернатант використовували як безклітинний екстракт).

Активність алкангідроксилази (КФ 1.14.15.3) визначали спектрофотометрично за окисненням НАДФН при 340 нм з використанням *н*-гексадекану як донора електронів. Активність алкогольдегідрогенази КФ 1.1.1.1 КФ 1.1.1.2, КФ 1.1.1.164, КФ 1.1.1.192 і ацетальдегіддегідрогенази (КФ 1.2.1.3 і КФ 1.2.1.4) аналізували спектрофотометрично за відновленням $НАД^+$ чи $НАДФ^+$ при 340 нм з використанням як донора електронів *н*-гексадеканолу.

Активність алкогольдегідрогенази (КФ 1.1.99.8) і альдегіддегідрогенази (КФ 1.2.99.3) аналізували спектрофотометрично за відновленням дихлорфеноліндофенолу за присутності феназинметосульфату (ФМС) при 600 нм з *н*-гексадеканолом як донором електронів. Активність нікотинопротеїнової (НАД(Ф)Н-вмісної) алкогольдегідрогенази (КФ 1.1.99.36) і альдегіддегідрогенази (КФ 1.2.99.–) визначали спектрофотометрично за відновленням 4-нітрозо-N,N-диметиланіліну (НДМА) при 440 нм з *н*-гексадеканолом, етанолом і гліцерином як донорами електронів. Активність ацетаткінази (КФ 2.7.2.1), ацетил-КоА-синтетази (КФ 6.2.1.1), ізоцитратліази (КФ 4.1.3.1), фосфоенолпіруватсинтетази (ФЕП-синтетаза, КФ 2.7.9.2), ФЕП-карбоксикінази (КФ 4.1.1.49), ФЕП-карбоксилази (КФ 4.1.1.31), як описано раніше [2].

Під час дослідження впливу катіонів калію, натрію і амонію їх концентрація у реакційній суміші становила 25, 50 і 100 мМ. Катіони вносили у вигляді 20 %-них розчинів KCl, NaCl і NH_4Cl.

Результати та обговорення. В аеробних умовах першою реакцією катаболізму вуглеводнів є їх окиснення до відповідних спиртів за участю кисню під дією ферментів монооксигеназ [3]. Залежно від довжини ланцюга алканів

різні ферментні системи необхідні для оксигенування субстрату: C_1–C_4-алкани окиснюються метанмонооксигеназами (як розчинними, так і мембранозв'язаними); C_5–C_{16}-алкани – алкангідроксилазними системами, що містять негемове залізо або цитохром Р450 монооксигеназами; алкани, що містять 17 і більше атомів вуглецю – недостатньо вивченими на теперішній час ферментами (наприклад, діоксигеназами).

Наші дослідження показали, що у *R. erythropolis* IMB Ac-5017 окиснення *н*-гексадекану здійснюється алкангідроксилазним комплексом,що складається з розчинної НАДН-рубредоксинредуктази, розчинного рубредоксину и мембранозв'язаної монооксигенази, або алкангідроксилази (AlkB) [3]. Так, активність алкангідроксилази за умов росту бактерій на середовищі 1 становила 60–180 нмоль·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білку і суттєво (на 40–80 %) підвищувалася за присутності катіонів натрію. Ці результати дали змогу припустити, що можна збільшити активність алкангідроксилази а, отже, й ефективність синтезу ПАР за заміни у середовищі культивування KNO_3 на еквімолярну за азотом концентрацію $NaNO_3$. Дійсно, експерименти показали, що алкангідроксилазна активність у клітинах *R. erythropolis* IMB Ac-5017, вирощених на середовищі 2, була у 3-4 рази вищою, ніж за умов росту на середовищі 1 (табл. 1). Під час дослідження впливу катіонів калію на активність алкангідроксилази було встановлено, що K^+ є інгібітором цього ферменту: за присутності 25–100 мМ K^+ алкангідроксилазна активність знижувалася на 60–80%. Зазначимо, що у процесі культивування штаму IMB Ac-5017 на середовищі 2 показники синтезу ПАР були у 1,3–1,6 рази вищими порівняно з вирощуванням бактерій на середовищі 1 (табл. 1).

Оскільки алкангідроксилаза є залізовмісним ферментом, то її активність повинна залежати від концентрації іонів заліза у середовищі культивування. Встановлено, що за внесення у середовища 1 і 2 $FeSO_4 \times 7H_2O$ спостерігали підвищення більш ніж у 1,5–2 рази не тільки алкангідроксилазної активності, а й показників синтезу ПАР (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив катіонів натрію та заліза на активність алкангідроксилази і синтез ПАР за умов росту R. erythropolis IMB Ac-5017 на гексадекані

Джерело азота у середовищі культивування	Концентрація у середовищі $FeSO_4 \times 7H_2O$, г/л	Активність алкангідрок-силази, нмоль·хв$^{-1}$·мг$^{-1}$ білку	Показники синтезу ПАР		
			ПАР*	ПАР, г/л	E_{24}, %
$NaNO_3$ (середо-вище 2)	0	223±11	2,2±0,11	1,3±0,06	48,0±2,4
	0,01	598±25	4,5±0,20	4,0±0,20	51,6±2,5
KNO_3 (середо-вище 1)	0	64±3	1,±0,07	1,0±0,05	32,1±1,6
	0,01	170±8	2,±0,14	2,5±0,12	35,8±1,7

Подальші дослідження показали, що катіони натрію є активатором, а катіони калію інгібітором НАДФ$^+$-залежної альдегіддегідрогенази *R. erythropolis* IMB Ac-5017.

За умов росту *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на етанолі катіони калію є інгібіторами ПХХ-залежних алкоголь- і ацетальдегіддегідрогеназ і ферментів біосинтезу ПАР (НАДФ$^+$-глутаматдегідрогенази, ФЕП-карбоксикінази), а катіони амонію є активатором цих ферментів.

Ці результати дали змогу припустити, що заміна у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 нітрату калію на еквімолярні за азотом концентрації амонійних солей або сечовини супроводжуватиметься підвищенням як активності ферментів, так і показників синтезу ПАР. Проте одержані дані виявилися неочікуваними: за присутності у середовищі культивування бактерій амонійних солей показники синтезу ПАР були у 2–2,7 і 2,9–5,7 разів нижчими порівняно з показниками на середовищі з нітратом калію і сечовиною відповідно. Очевидно, у *A. calcoaceticus* IMB B-7241 існують певні проблеми з

транспортом іонів амонію у клітини (на відміну від транспорту амінного азоту).

Наступні експерименти були спрямовані на встановлення механізмів, що забезпечують підвищення рівня синтезу ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за використання сечовини як джерела азотного живлення.

Відомо, що сечовина у клітинах мікроорганізмів гідролізується до іонів амонію і CO_2 під дією ферменту уреази (КФ 3.5.1.5) [4]:

$$\text{Сечовина} + H_2O \rightarrow 2\ NH_3 + CO_2.$$

Отже, уреазна реакція, в результаті якої утворюється вуглекислий газ, супроводжується підвищенням внутрішньоклітинної концентрації CO_2, що, в свою чергу, може призвести до отруєння клітин і інгібування їхнього росту. Цілком ймовірно, що фізіологічна роль ФЕП-карбоксилази за умов росту *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на середовищі з сечовиною полягає у знешкодженні високих концентрацій вуглекислого газу, утворюваного під час гідролізу сечовини, тобто ФЕП-карбоксилазна реакція є своєрідним стоком надлишкового CO_2 у клітинах цих бактерій. Зазначимо, що в результаті функціонування ФЕП-карбоксилазної реакції не тільки знижується концентрація вуглекислого газу, а й підвищується вміст C_4-дикарбонових кислот, які є попередниками глюконеогенезу. Отже, фізіологічне значення цього ферменту під час культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на середовищі з етанолом і сечовиною може полягати також у посиленні глюконеогенезу, а отже й підвищенні синтезу поверхнево-активних гліколіпідів. Підтвердженням цьому стали результати дослідження активності ферментів глюконеогенезу за умов росту штаму IMB B-7241 на середовищі з сечовиною і нітратом калію (табл. 2).

Таблиця 2. Активність ферментів глюконеогенезу за умов росту A. calcoaceticus IMB B-7241 у середовищі з різними джерелами азоту

Джерело азоту у середовищі	Активність (нмоль·хв$^{-1}$мг$^{-1}$білка)	
	ФЕП-синтетази	ФЕП-карбоксикінази
KNO_3	2173±108	450±22
$(NH_2)_2CO$	4400±170	1209±58

Висновки. На основі аналізу особливостей метаболізму продуцентів ПАР виявлено активатори та інгібітори ключових ферментів катаболізму ростових субстратів і ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин, що дало змогу модифікувати поживні середовища, за умов росту продуцентів на яких показники синтезу ПАР підвищувалися у 2-4 рази порівняно з такими на базовому (немодифікованому) середовищі.

Список літератури

1. *Santos D.K., Rufino R.D., Luna J.M., Santos V.A., Sarubbo L.A.* Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century // Int. J. Mol. Sci. − 2016. − V. 17. − doi: 10.3390/ijms17030401.

2. *Подгорский В.С., Иутинская Г.А., Пирог Т.П.* Интенсификация технологий микробного синтеза. К.: Наук. думка, 2010. – 327 с.

3. *van Beilen J.B., Funhoff E.G.* Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – V. 74. – P. 13–21.

4. *Geweely N.S.I.* Purification and characterization of intracellular urease enzyme isolated from *Rhizopus oryzae* // Biotechnology. – 2006. – V. 5. – P. 358–364.

СИНТЕЗ БІОСУРФАКТАНТІВ ШТАМАМИ *PSEUDOMONAS* НА ВІДХОДАХ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЮ

Тетяна Покиньброда, Олена Карпенко

Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАНУ, м. Львів, Україна

Abstract. The efficiency of wastes of biodiesel production (crude glycerol) for the synthesis of surfactants by strains genus *Pseudomonas* was founded. She strain *Pseudomonas* sp. PS-17 utilizes crude glycerol in amounts less than 10%. Rhamnolipid biocomplex synthesized on crude glycerol is an effective emulsifier of hydrophobic substances that can be used in environmentally friendly technologies.

Keywords: biosurfactants, rhamnolipids, Pseudomonas, emulgation, crude glycerol.

Вступ. В останні роки у зв'язку і погіршенням екологічної ситуації різко зростає інтерес до використання альтернативних джерел палива, отриманих з рослинної сировини, таких як біодизельне пальне. В Євросоюзі до 2030 р. планується довести частку біодизелю у загальному об'ємі палива 25 % [1]. Сировиною для його виробництва можуть бути різноманітні рослинні олії та тваринні жири, у процесі виробництва тригліцериди жирів гідролізують до гліцерину і жирних кислот (ЖК), які етилюють до метилових естерів, які і використовують як біодизельне паливо. Побічними продуктами є технічний гліцерин ТГ (70-80 % водний розчин), залишки олії і вільних ЖК. Проблема утилізації відходів є ключовою: на кожну тонну біодизелю накопичується 100 кг ТГ [2]. Ведуться інтенсивні пошуки можливостей його переробки. Так, пропонується отримання 1,3-пропандіолу, білків, ліпідів, амінокислот, органічних кислот [3], зокрема лимонної кислоти [4] мікробіологічним шляхом. Є дані й про синтез на середовищах з ТГ біогенних ПАР. Так, штам *P. aeruginosa* PA1 синтезував рамноліпіди у ферментері, не помічено суттєвої різниці в їх кількості і складі порівняно з гліцерином [5]. Штам *Bacillus subtilis* ATCC 6633 на

відходах біодизелю синтезував 158,14 мг/л сурфактину, що ефективно емульгував соєву олію і гексадекан [6]. Тобто, отримані на таких відходах біоПАР є ефективними і можуть застосовуватись у різних галузях, зокрема у біодеструкції нафтових забруднень [7]. Метою нашої роботи було встановлення здатності штамів *Pseudomonas* sp. PS-17, *P. fluorescens* 8573, *P. aureofaciens* NB-1 до синтезу ПАР на середовищах з гліцериновою фракцією виробництва біодизелю як джерелом вуглецю.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктом дослідження були *P. fluorescens* 8573 з колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України та *P. aureofaciens* NB-1 *Pseudomonas* sp. PS-17 з колекції ВФХГК ІнФОВ НАНУ.

Культивування мікроорганізмів, інокуляцію, приготування поживних середовищ проводили як описано у статті [8]. Як джерело вуглецю та енергії використано гліцерин або відходи виробництва біодизелю (ТГ) виробництва ТОВ Запорізький біопаливний завод із вмістом гліцерину 80 %).

Вміст біомаси, рамноліпідний комплекс (РБК) Ліпіди екстрагували з СКР *P. fluorescens* 8573, *P. aureofaciens* NB-1 сумішшю етилацетат–метанол 2:1 при pH 3, *Pseudomonas* sp. PS-17 – хлороформ–метанол 2:1 при pH 3, якісний аналіз проводили методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) (DC-Alufolien Kieselgel 60, "Merck") з рухомою фазою хлороформ–метанол–оцтова кислота 85:15:2, візуалізували 5%-ним розчином фосфорномолібденової кислоти [9]. Кількість ЖК у СКР визначали сульфованіліновим методом [10].

Емульгувальну активність визначали як у [11]. Індекс емульгування (E_{24}) визначали через 24 год, стійкість емульсій у часі на 6 (E_{144}) та 21 (E_{504}) доби – як величину відношення висоти заемульгованого шару до загальної висоти рідини у пробірці. Поверхневий натяг (δ, мН/м) визначали методом Дю-Нуі з платиновим кільцем на тензіометрі KRUSS K6 ("KRUSS" GmbH, Germany). Повторність дослідів 3-разова. Статистичного обробку даних проводили за критерієм Стьюдента методами варіаційної статистики [12].

Результати і обговорення. Культивування мікроорганізмів проводили на середовищах з гліцерином або відходами виробництва біодизелю - ТГ (табл. 1).

Таблиця 1. Синтез біоПАР штамами Pseudomonas на мінеральному середовищі з гліцерином та технічним гліцерином (ТГ) як джерелами вуглецю

Штам	Субстрат (4 % мас)	Біомаса, г/л	E_{24}, %		Загальні ліпіди, г/л	Поверхневий натяг, σ, мН/м
			Вазелінова олива	Соняшникова олія		
Pseudomonas sp. PS-17	гліцерин	3,5	20	40	5,5	30
	ТГ	3,9	12	25	5,9	32
P. fluorescens 8573	гліцерин	5,7	54	54	5,3	28
	ТГ	6,5	19	42	14,3	34
P. aureofaciens NB-1	гліцерин	3,6	20	16	7,0	28
	ТГ	4,3	0	11	12,9	32

Отже, як видно з таблиці 1, при культивуванні досліджених штамів на технічному гліцерині біомаси є більшою на 11-20 %, порівняно з середовищем із гліцерином. Таке явище спостерігається при рості мікроорганізмів на змішаних субстратах, у даному випадку – гліцерин та ріпакова олія, з яких складається гліцеринова фракція біодизелю. Також залишки вітамінів, мікроелементів та фосфоліпідів можуть інтенсифікувати ріст бактерій. Проте, ТГ засвоювався не повністю – візуально в об'ємі КР помічено емульсію водонерозчинного субстрату. Зафіксовано збільшення кількості загальних ліпідів, проте якісний аналіз методом ТШХ показав, що у складі ліпідів (окрім *Pseudomonas* sp. PS-17) переважають ЖК, що й впливає на підвищення поверхневого натягу СКР, отриманих на технічному гліцерині. Емульгувальна активність СКР, отриманих на ТГ, щодо вазелінової оливи в середньому в 2 рази нижча, ніж у контролі (середовище з гліцерином) та в 1,5 рази нижча при емульгуванні соняшникової олії.

Оскільки лише для штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 при рості на ТГ (за ТШХ) підтверджено відсутність залишків ЖК, його обрано для наступних експериментів. Досліджено ріст штаму на ТГ у кількостях 2-10% мас. (табл. 2).

Таблиця 2. Синтез біомаси та біоПАР штамом Pseudomonas sp. PS-17 на мінеральному середовищі з технічним гліцерином

ТГ, %	Біомаса, г/л	РБК, г/л	E_{24}, %		Жирні кислоти, ЖК, г/л	σ, мН/м
			Вазелінова олива	Соняшникова олія		
2	2,4	5,6	18	35	4,2	29
3	3,3	5,7	15	29	4,2	29
4	3,9	7,4	12	25	5,8	30
5	4,3	9,5	9	14	8,1	31
10	5,8	30,1	5	10	28,8	32

При збільшенні концентрації ТГ зростають біомаса, вміст ліпідів та РБК. Проте у СКР відмічено збільшення кількості ЖК (синтезованих або залишків з субстрату?), тобто при збільшенні кількості ТГ субстрат не повністю утилізується, що впливає на властивості СКР – зростає поверхневий натяг, знижується емульгувальна активність. Ймовірно, для отримання ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17 можна рекомендувати ТГ як джерело вуглецю у концентраціях до 4 %.

Тому нами було досліджено емульгувальну активність та стабільність у часі емульсій на основі водного розчину РБК (0,5-5 г/л), виділеного з СКР *Pseudomonas* sp. PS-17, що культивувався на середовищі з 4 % ТГ. В якості модельних вуглеводнів використано вазелінову оливу та соняшникову олію. Стійкість емульсій аналізували через 1 (E_{24} год), 6 (E_{144} год) та 21 (E_{504} год) добу (табл. 3). Як виявилося, РБК ефективно емульгує обидві гідрофобні речовини, при чому із збільшенням його концентрації показники емульгування соняшникової олії збільшуються, а вазелінової оливи зменшуються. Це можна

пояснити більшою спорідненістю РБК, отриманого на ріпаковій олії з ТГ, до рослинних олій, і відповідно здатністю до їх емульгування. Крім того, емульсії РБК (5 г/л) з соняшниковою олією є стабільнішими в часі (E_{504} 36 %).

Таблиця 3. Емульгувальні властивості РБК штаму Pseudomonas sp. PS-17 на середовищі з 4 % технічним гліцерином

Концентрація РБК, г/л	Емульговані вуглеводні	E_{24}, %	E_{144}, %	E_{504}, %
0,5 г/л	Соняшникова олія	43	33	13
	Вазелінова олива	37	22	5
2,5 г/л	Соняшникова олія	45	29	13
	Вазелінова олива	32	18	3
5 г/л	Соняшникова олія	54	54	36
	Вазелінова олива	31	18	3

Отже, РБК *Pseudomonas* sp. PS-17, отриманий на мінеральному середовищі з 4 % ТГ як джерела вуглецю можна використовувати як ефективний емульгатор, а також для прискорення біодеградації відходів олійної промисловості.

Висновки.

1 Бактеріальні штами *P. fluorescens* 8573, *P. aureofaciens* NB-1 та *Pseudomonas* sp. PS-17 здатні утилізувати відходи виробництва біодизелю.

2 Штам *Pseudomonas* sp. PS-17 синтезує ПАР на технічному гліцерині у концентраціях до 10%.

3 Рамноліпідний біокомплекс – продукт синтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 на відходах біодизелю (4%) є ефективним емульгатором гідрофобних речовин.

Список літератури

1 *Himmel M.E., Ding S-Y., Johnson D.K., Adney W.S., Nimlos M.R., Brady J.W.* Biomass recalcitrance: Engineering plants and enzymes for biofuels production // Science.-2007.- V. 315.-p. 804-807.

2 *Дебабов В.Г.* Биотопливо // Биотехнология.- 2008.- № 1.- С. 3-14.

3 Патент РФ 2374322. Способ получения *l*-аминокислот методом ферментации с использованием бактерий, обладающих повышенной способностью к утилизации глицерина / Е. А. Сливинская, М. Е. Шереметьева, Ю. А. Оводова, К. В. Рыбак, Ю. И. Козлов //опубл. 27.11.2009.-91 с.

4 Фатыхова А. Р. Биосинтез лимонной кислоты дрожжами *Yarrowia lipolytica* из глицерин-содержащих отходов производства биодизельного топлива: автореф. дис. канд. биолог. наук.- Пущино,2011.- 22с.

5 *Pereira A., Pacheco G., Tavares L., Neves B., Kronemberger F., Reis R.* Optimization of biosurfactant production using waste from biodiesel industry in a new membrane assisted bioreactor // Process Biochemistry.-2013.-48.-p. 1271–1278.

6 *de Sousa L., Dantas I., Felix A., de Sant'Ana B., Melo V., Gonzalves L*. Crude Glycerol from Biodiesel Industry as Substrate for Biosurfactant Production by *Bacillus subtilis* ATCC 6633. // Brazilian archives of biology and technology.- 2014.-Vol.57.- №.2.-p. 295-301.

7 *Хом'як Д.І,. Боровик О.О., Гриценко Н.А., Конон А.Д., Пирог Т.П.* Використання відходів виробництва біодизелю для синтезу поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii K-8* та дослідження їх впливу на біодеструкцію нафти. // Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету.-2011.-№8.-с. 110-121.

8 *Покиньброда Т.Я., Пирог Т.П., Карпенко О.В., Пристай М.В., Болібрух Л. Д.* Синтез поверхнево-активних речових штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 на змішаних субстратах // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». – 2016. – № 841. – С. 210-217.

9 Ando S., Saito M. Chromatography lipid, biomedical research and chemical diagnostic. - Elsevier.: Amsterdames, 1987. – P. 266-310.

10 *Комаров Ф.И. Жоровкин Б.Ф.,Меньшиков В.В.* Биохимические исследования в клинике.- М.:Изд.«Джангар»,2001.- 216с.

11 *Кучер Р.В., Лесик О.Ю., Карпенко О.В.* Емульгування вуглеводнів – нова властивість культури дріжджів *Phaffia rhodozyma*. // Доп. АН УРСР. Сер.Б. Геол., хім. та біол. науки. – 1990.-№ 8.- с.49-53.

12 *Лакин А. Н.* Курс вариационной статистики. – К.: Вища школа, 1990. – 116 с.

ЗМІНА ВЛАСТИВОСТЕЙ ХЛІБОБУЛОЧНИХ ВИРОБІВ ПІД ВПЛИВОМ ПРОБІОТИЧНОГО ПОКРИТТЯ

Катерина Покойовець, Наталія Грегірчак

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. Bread coated with a film containing a probiotic in its composition was studied. Change of microbiological contamination of bread during storage, the presence of lactic acid bacteria, mold fungi and yeast, as well as microbial resistance bread were tested. It is noted that number of MAFAM in the bread with probiotic is lower than in bread without additives throughout the storage. This suggests the possibility of their use in edible coatings.

Keywords: bakery, edible coatings, probiotic.

Вступ. Актуальним питанням сьогодення є виробництво хліба функціонального призначення. Одним із шляхів створення таких продуктів є введення до їх складу мікроорганізмів з пробіотичними властивостями [1]. Вони сприяють модуляції імунної системи, підтриманню мікроекології кишечника, дезактивації канцерогенів тощо [2]. Згідно ФАО/ВООЗ хліб набуває статусу функціонального лише при кількості КУО не менше 10^5…10^7 на 1 грам продукту на кінець терміну зберігання [3].

Однак, проблемою є те, що мікроорганізми, особливо молочнокислі бактерії гинуть при високих температурах, тому в процесі випікання в рецептурі їх використовувати недоцільно. Одним із шляхів збереження пробіотичних властивостей мікроорганізмів є введення до їх складу харчової плівки, яку наносять на хліб [4].

Донедавна харчові плівки використовували для подовження терміну зберігання продукту, сповільнюючи шкідливі реакції ферментації, фізичні та хімічні процеси під час зберігання; піднімаючи термодинамічний або фізичний бар'єр, який уповільнює виділення парів води, кисню та утворення токсичних

речовин [5]. Сьогодні широкого використання набуло їх застосування у якості ефективних носіїв (матриць) для різних груп біологічно активних сполук (вітамінів, антиоксидантів, пробіотиків тощо) при внесені у нетрадиційні харчові системи [6].

Метою роботи була оцінка якості хлібобулочних виробів, з пробіотичним покриттям, а саме мікробіологічна стійкість досліджуваних зразків хліба.

Матеріали і методи дослідження. Для виготовлення покриття використовували модифікований крохмаль з високоамілозних сортів кукурудзи, желатин, гліцерин (99 %) в якості пластифікатора. Покриття отримували в результаті змішування компонентів з дистильованою водою. При цьому суміш нагрівали при 85-90 °С протягом 30 хв, для того, щоб забезпечити повне розчинення та гідратацію. Потім розчин охолоджували до 30 °С та додавали порошок пробіотика «Симбілакт Vivo» (виробник – Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук України). Зразки хліба випікали безопарним методом, маса кожного зразка становила 250 г. Невелику кількість покриття наносили на поверхню свіжоспеченого хліба намазуванням (можливе розпилення).

Загальну кількість мікроорганізмів та кількість молочнокислих бактерій на скоринці хліба визначали висівом на м’ясопептонний агар (МПА) і середовище MRS відповідно. Культивування проводили за температури 37 °С протягом 3 діб. Із ізольованих колоній готували препарати, фарбували за Грамом та мікроскопіювали. Молочнокислі бактерії є грампозитивними коками та паличками.

Вміст пліснявих грибів та дріжджів перевіряли висівом на сусло-агар з антибіотиком. Культивування проводили за температури 28 °С протягом 5 діб. Посів здійснювали через 3 год після випікання 48, 86 год зберігання [7].

Для виявлення кількості молочнокислих бактерій в пробіотику «Симбілакт Vivo» використовували середовище MRS. Кількість бактерій становила 1×10^9 КУО/г.

Результати і обговорення. Проводили дослідження мікробіологічної безпеки хлібобулочних виробів оброблених пробіотичною плівкою та без покриття. Кількість нанесеного їстівного покриття на вироби складала 10 мл. У зразках визначали кМАФАм, кількість молочнокислих бактерій, а також плісняві гриби та дріжджі. Результати наведені у табл. 1 та 2 відповідно.

Таблиця 1. Зміни обнасіненості хліба під час зберігання

Зразок хліба	Загальна кількість МАФАМ, КУО/г		
	3 год	48 год	86 год
Контроль (без покриття)	$1,5\times10^2$	$4,5\times10^3$	$6,3\times10^3$
Зразок з покриттям	$6,5\times10^2$	$4,5\times10^2$	$3,3\times10^2$

У зразку хліба з покриттям кількість мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАМ) на порядок нижча , на відмінну від контрольного зразка, де МАФАМ збільшується при зберіганні хліба впродовж 4 днів.

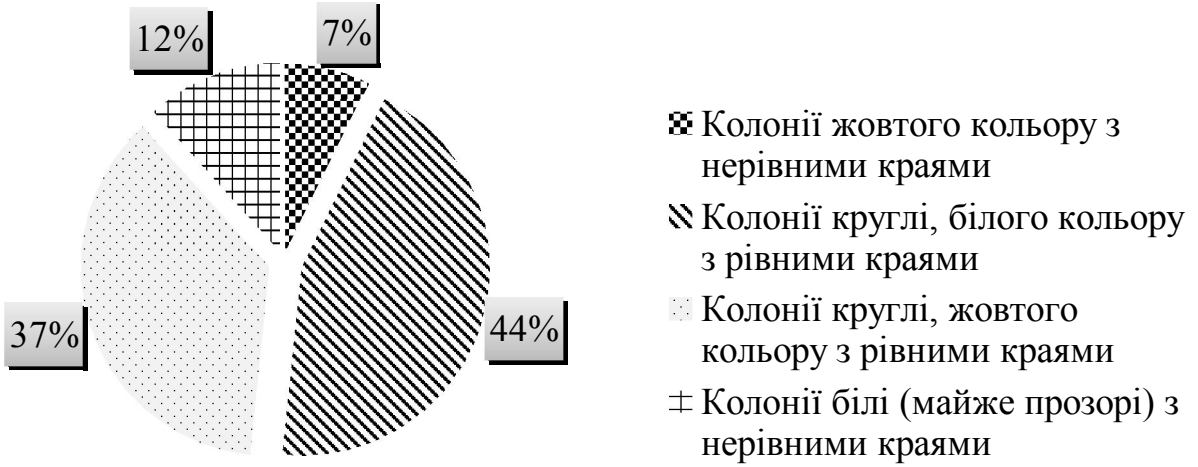


Рис. 1. Аналіз морфотипів колоній

Для оцінки якісного складу мікрофлори хліба проводили аналіз їх морфолого-культуральних ознак. Результати представлені на рис. 1.

Аналіз складу мікрофлори зразків хліба через 3 год після випікання показав, що на середовищі МПА, вони утворюють колонії великих, малих і середніх розмірів, білого і жовтого забарвлення, з рівними і нерівними краями. Основна частина мікроорганізмів - кокові бактерії, білого кольору, з рівними краями, клітини яких розміщуються поодиноко або скупченнями.

Таблиця 2. Наявність молочнокислих бактерій при зберіганні хліба

Зразок хліба	Кількість молочнокислих бактерій, КУО/г	Життєздатність молочнокислих бактерій, %
3 год		
Контроль (без покриття)	$1{,}2\times10^3$	0,3
Зразок з покриттям	1×10^5	25
48 год		
Контроль (без покриття)	$5{,}3\times10^2$	0,1
Зразок з покриттям	$9{,}3\times10^4$	23,3
86 год		
Контроль (без покриття)	$2{,}8\times10^2$	0,07
Зразок з покриттям	$4{,}7\times10^4$	11,75

Як правило, кількість молочнокислих бактерій при зберіганні хліба, зменшується у зв’язку з відсутністю сприятливих умов для їх існування. Але відмічено, що кількість молочнокислих бактерій через 48 год зберігання в зразку з покриттям на 23,2 % більша, порівняно із контрольним зразком, а через 86 год зберігання – зменшується у два рази. Використання покриття з пробіотиком сприяє збереженню життєздатних молочнокислих бактерій при зберіганні хлібобулочних виробів.

Оскільки, плісняві гриби і дріжджі є вторинною мікрофлорою, було досліджено їх вміст в хлібобулочних виробах. Протягом всього терміну

зберігання наявність слідів мікробного псування цими мікроорганізмами не виявлено.

Висновки. Результати досліджень показали доцільність додавання пробіотика в хлібобулочні вироби через його внесення до складу їстівного покриття та покращення показників мікробіологічної безпечності виробу.

Список літератури

1. *Чепель Н. В., Сильчук Т. А., Кашнікова М. О.* Дослідження життєздатності про біотичної культури *LACTOBACILLUS CASEI* у житньому хлібі з харчовою плівкою // Scientific Journal «ScienceRise» №8/2(13)2015. DOI: 10.15587/2313-8416.2015.47761

2. *Saad, N.* An overview of the last advances in probi-otic and prebiotic field [Text] / N. Saad, C. Delattre, M. Urdaci, J. Schmitter, P. Bressollier // LWT – Food Science and Technology. – 2015. – Vol. 50, Issue 1. – P.1–16. doi: 10.1016/ j.lwt.2012.05.014

3. FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probi-otics in food [Electronic resource] // Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of pro- biotics in food. – 2002. – Available at: http:ftp.fap.org/ es/esn/food/wgreport2.pdf

4. *Burgain, J.* In vitro interactions between probiotic bacteria and milk proteins probed by atomic force microscopy [Text] / J. Burgain, C. Gaiani, G. Francius, A. Revol-Junelles, C. Cailliez-Grimal, S. Lebeer // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2013. – Vol. 104. – P. 153–162. doi: 10.1016/ j.cis.2014.09.005

5. *Bustos, P.* Influence of osmotic stress and encapsu-lating materials on the stability of autochthonous Lactobacillus plantarum after spray drying [Text] / P. Bustos, R. Bórquez // Drying Technology. – 2013. – Vol. 31, Issue 1. – P. 57–66. doi: 10.1080/07373937.2012.74509

6. *Kanmani, P.* Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films [Text] / P. Kanmani, S. Lim // Food Chemistry. – 2013. – Vol. 141, Issue 2. – P. 1041–1049. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.03.103

7. *Грегірчак Н.М.* Мікробіологія харчових виробництв: Лаб. практикум. – К.: НУХТ, 2009. – 302 с.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА КРАСНЫХ СТОЛОВЫХ ВИН НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

Намик Рагимов, Ильхама Кязымова

Азербайджанский Государственный Экономический Университет, г.Баку, Республика Азербайджан

Аннотация. В данной работе предлагается усовершенствование технологии производства ординарных столовых вин в условиях Азербайджана с использованием ферментных препаратов Новоферм 12, Винозим Г и исследован химический состав, а также физико-химические свойства красных столовых виноматериалов.

***Ключевые слова**:* виноград сорта Матраса, ферментные препараты Новоферм 12, Винозим Г, виноматериал, ферментативный катализ, оклейка, бентонит, желатин.

Введение. Одной из актуальных проблем виноделия является повышение качества виноградных вин, в том числе столовых вин, улучшение их органолептических свойств, решение вопроса стабилизации, главным образом к помутнениям коллоидного характера. В связи с этим представляет особый интерес применение ферментативного катализа в технологии вин. Приведя к разрушению биополимеров виноградного сырья, гидролитические ферментные препараты способствуют увеличение выхода сусла, улучшения осветления и качества виноматериалов и их органолептических свойств [1, 4].

Результатом достижений современной биотехнологии стало появление большого ассортимента ферментных препаратов нового поколения. Наличие в них высокоактивного полиэнзимного комплекса, способного осуществлять глубокий гидролиз высокомолекулярных

компонентов кожицы и мякоти винограда, позволяет решить задачи интенсификации технологических процессов переработки сырья и повышения качества готовой продукции.

Материалы и методы исследования. Целью работы явилось изучение целесообразности применения ферментных препаратов Новоферм 12, Винозим Г препаратов Новоферм 12, Винозим Г при получении красных виноматериалов из винограда сорта Матраса в условиях Азербайджана. Проведены исследования качественного и количественного содержания ароматообразующих веществ, участвующих в создании сортового аромата столовых виноматериалов приготовленных из винограда сорта Матраса.

Для определения основных показателей химического состава объектов использовали стандартные методы ГОСТ, а также методики, изложенные в методических рекомендациях НИВиВ «Магарач», а также методики МОВВ. Массовую концентрацию ароматических веществ определяли методом газовой хроматографии на приборе «Кристалл 2000 М» (Россия) [2,3,4,5,6].

Исследования проводились в трехкратной повторности. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием програм Excel Microsoft Office, MathCad и Statistika.

Результаты и обсуждение. С целью определения этапа технологического процесса нами испытывались различные режимы приготовления красных столовых виноматериалов, с целью получения максимального эффекта применения ферментных препаратов Новоферм 12, Винозим Г по показателям переработки, дегустационной оценки, ароматообразующих веществ и их стабильности. Схемы приготовления виноматериалов в условиях микровиноделия представлены в таблице 1.

Таблица 1. Технологические схемы приготовления красных столовых виноматериалов с использованием ферментных препаратов

№ опыта	Технологические схемы
Контроль	Сульфитация мезги (50 мг/дм^3) → ЧКД (Федосия 1-19) брожение мезги до массовой концентрации сахаров – 2-3 г/100 см^3 → прессование → дображивание виноматериала
Схема 1	Сульфитация мезги (50 мг/дм^3) → ЧКД (Федосия 1-19) → внесение ферментного препарата Новоферма 12 из расчета (2 мл на 1 кг винограда) → настаивание на мезге (4-6 ч)сахаров 2-3 г/100 см^3→ прессование → брожение сусла → получение виноматериала
Схема 2	Сульфитация мезги (50 мг/дм^3)→ ЧКД (Федосия 1-19) → внесение ферментного препарата Винозим Г из расчета (2 мл на 1 кг винограда) → настаивание на мезге (4-6 ч)сахаров 2-3 г/100 см^3 → прессование-> брожение сусла → получение столового виноматериала

Исследования показали, что ферментативная обработка мезги винограда сорта Матраса оказывают значительные изменения состава фенольных веществ в полученных столовых виноматериалах. Ферментированные вина по сравнению с контрольным вариантом характеризовались более яркой интенсивностью окраски и, были более экстрактивными. Проведенный мониторинг накопления фенольных веществ, их полимерной, мономерной фракции антоцианов в виноматериалах, полученных из исследуемого красного сорта винограда Матраса и полученные данные представлены в таблице 2.

Выявленное количество фенольных соединений в виноматериалах из опытных схема № 2 (2970 мг/дм^3) и схема №1 (2795 мг/дм^3) и их более высокая дегустационная оценка по сравнению с контрольным образцом без ферментативной обработки мезги свидетельствует о значительном преимуществе направленной ферментативной обработки для получения из них хорошо окрашенных высококачественных столовых вин.

Таблица 2. Массовые концентрации фенольных соединений, антоцианов в столовых красных виноматериалах

№ опыта	Сумма фенольных соединений, мг/дм^3	Мономерная фракция фенольных веществ, мг/дм^3	Полимерная фракция фенольных веществ, мг/дм^3	Антоцианы мг/дм^3	Органолептическая оценка, балл
Контроль	2275±215	1004±210	2015±300	389±150	7,9±0,2
Схема 1	2795±145	1028±146	1145±419	476±136	8,1±0,2
Схема 2	2970±312	1039±180	1215±135	519±210	8,2±0,2

Далее нами было изучено изменение содержания ароматических веществ в столовых красных виноматериалах, в зависимости от вида использованных ферментных препаратов.

Установлено, что при производстве столовых красных виноматериалов по схеме №1 в сравнении со схемой №2 снижалась массовая концентрация ароматобразующих компонентов за счет уменьшения содержания таких соединений как уксусный альдегид, этилацетат, изоамиловый спирт, изобутанол и метанол, отрицательно влияющих на качество вин.

В виноматериалах, приготовленных по 2-й схеме (ферментативная обработка препаратом Винозим Г) были выявлены более высокие концентрации β-фенилэтанола и β-ионона, вносящих в букет вина оттенки цветов. Присутствие указанных ароматообразующих веществ оказала положительную роль в органолептических показателях вин.

Следующий этап наших исследований предусматривал испытание вин на склонность к коллоидным помутнениям. Принимая во внимание актуальность вопроса по увеличению сроков стабильности ординарных столовых вин (до 1 года и выше) мы рассматривали возможность использования для этой цели обработку вин традиционными оклеивающими материалами, в минимальных дозах.

Таблица 3. Влияние технологических обработок на содержание биополимеров в красных столовых виноматериалах

Вариант	Вид обработки	Сумма полисахаридов мг/дм^3	Общие фенольные вещества, мг/дм^3	Белок мг/дм^3	Характеристика яркости У % интенсивность окраски И= $Д_{420}$ +$Д_{520}$
Контроль	без обработки	376,0	2275	17,7	0,749
	бентонит+ желатин	260,2	1989	14,1	0,690
Схема 1	без обработки	200,5	2795	13,5	0,765
	бентонит+ желатин	144,0	2512	9,9	0,714
Схема 2	без обработки	180,4	2970	9,0	0,815
	бентонит+ желатин	119,7	2711	7,1	0,785

В обработанных виноматериалах определяли содержание биополимеров с целью прогнозирования устойчивости их к коллоидным помутнениям (таблица 3).

Данные таблицы 3 свидетельствуют о положительном влиянии обработки вин оклеивающими материалами на их стабильность, но при этом наблюдалось незначительное снижение интенсивности окраски, вызываемое, очевидно сорбцией фенольных веществ. Вина, выработанные с использованием ферментных препаратов отличались сложным, изящным ароматом, гармоничным вкусом и дегустационными оценками 8,1 и 8,2 соответственно. При этом в виноматериалах приготовленными с использованием ферментного

препарата Винозим Г отличается более тонкий яркий, тонкий аромат и полный вкус.

Выводы. Усовершенствована технология производства красных столовых вин из винограда сорта Матраса с использованием ферментных препаратов Новоферм 12 и Винозим Г (фирма Ново-Нордиск, Швейцария).

Установлены закономерности изменения концентрации фенольных соединений в виноматериалах в зависимости от вида, активности и дозировки ферментных препаратов, а также продолжительности ферментации.

Показано, что использование ферментных препаратов при ферментации мезги способствует формированию ярких оттенков аромата и бархатистого вкуса виноматериалов и стабильности вин.

Список литературы

1. Датунашвили Е.Н. Биохимические основы применения ферментов в виноделии. Москва, Автореферат докторской диссертации – 1974 – 44 с.

2. Методы технохимического контроля в виноделии. Под ред.В.Г.Гержиковой – Симферополь- «Таврида» – 2002- 260 с

3. Гержикова В.Г. Методы технохимического контроля в виноделии. – Симферополь- «Таврида» – 2009- 204 с.

4. Рагимов Н.К. Оптимизация технологических режимов приготовления и стабилизации столовых и крепких вин с применением ферментных препаратов в условиях Азербайджанской ССР. Автореферат канд дисс. – Ялта – 1979 – 21 с.

5. Валуйко Г.Г. Биохимические основы технологии красных вин. Афтореферат докторской диссертации – Краснодар – 1972 – 74с.

6. Антоненко О.П. Совершенствование технологии малоокисленных столовых сухих красных вин из перспективных сортов винограда. Афтореферат кандитатской диссертации – Краснодар – 2013 – 23 с.

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА ДЕСЕРТНОГО ВИНА ТИПА МАЛАГИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Намик Рагимов, Мехрибан Юсифова

Азербайджанский Государственный Экономический Университет

Азербайджан, г.Баку

Аннотация. В настоящей работе изучена возможности и обоснована усовершенствованная технология производства десертного вина типа малаги используя виноградные сорта Ширван-Шахи и Ркацители с применением ферментных препаратов Ультразим и Целловиридин 20 ГХ.

Ключевые слова: десертное вино, малага, ферментные препараты, Ультразим, Целловиридин 20 ГХ, сорта винограда Ширван-Шахи и Ркацители.

Введение. На современном этапе развития винодельской отрасли Азербайджана важнейшим экономическим и социальным вопросам является значительное повышение качества выпускаемой продукции, а также всемерное укрепление агропромышленной интеграции, гибких технологических схем, что особенно важно в отраслях перерабатывающих сельскохозяйственное сырьё, каким является виноград.

Целью настоящей работы является создание новой технологии приготовления десертных вин типа Малаги. При этом необходимо было уточнение подбора сортов винограда и разработка критериев качества десертных вин типа малаги, связанных экстрактивными веществами виноградного сырья. Необходимо было подобрать компоненты и обосновать принципы получения высококачественных купажных виноматериалов для малаги, и создания оптимального соотношения купажных компонентов.

Материалы и методы исследования. Исходя из вышесказанных целью наших исследований является приготовление вин типа малаги с

использованием винограда сорта Ширван-Шахи и Ркацители с использованием ферментных препаратов нового поколения Ультразим и Целловиридин 20 ГХ.

Материалом исследований служили виноград из сорта Ширван-Шахи сахаристостью 24-26 г/100 $см^3$ из которого готовили основной купажный виноматериал для малаги. В качестве второго купажного использовали сусло всех фракций винограда сорта Ркацители из которого готовили уваренное сусло сахаристостью 60-70 г/100$см^3$.

В процессе исследований пользовались методами анализа принятыми в энохимии и изложеными в соответствующих ГОСТах [2,3,4] и методиках МОВВ.

Результаты и обсуждение. Среди группы десертных вин особое место занимает ликерные вина типа малаги, производство которых ограничен в виду трудоемкой технологии.

Известен испанский способ приготовления марочных десертных вин типа малаги полученной из нескольких виноматериалов (компонентов) путем их купажирования с определенным сочетанием. Основные малажные сорта винограда – Педро Хименес, Москатель, Альбилю. Из них готовят купажные виноматериалы – секо, абакадо, маэстро, тиерно, сладкое сусло-дульче и концентрат – арроп. Из указанных компонентов путем купажа получают различных по цвету, сладости и крепости малаги, которых содержат 13-18% об. спирта, 12-13 г на 100 мл сахаров [1].

Данная технология является сложной, более продолжительной и трудоемкой с применением большого количества компонентов. В Туркмении и Узбекистане эти вина готовят по более простой, чем испанской технологии путем купажирования двух материалов [6].

В настоящей работе изучена возможность и обоснована усовершенствованная технология производства вина типа малаги в условиях Азербайджана с использованием ценного местного сорта винограда Ширван-Шахи и интродуцированного винного сорта Ркацители.

При получении десертного вина типа малаги в качестве основного купажного материала (схема 2) использовали виноград сорта Ширван-Шахи сахаристостью 24-26 г/100 $см^3$ и операцию переработки осуществляли следующим образом: приемка винограда-подача на дробление и гребнеотделение, сульфитация мезги из расчета 75-80 $мг/дм^3$ диоксидом серы и внесение ферментного препарата Ультразим пектиназного действия в дозе 0,02 $г/дм^3$ и проводили ферментацию мезги при температуре 20-25^0 С в течении 10 часов и далее мезгу подвергали прессованию.

Полученное сусло сульфитировали из расчета 30 $мг/дм^3$ после чего подбраживали и спиртовали до 16 % об. и получали основной купажный виноматериал. В другом варианте (схема 3) основной виноматериал для купажа также получали из винограда сорта Ширван-Шахи сахаристостью 24-26 $г/100см^3$ и все операции проводили аналогично схеме 2, только в этом варианте использовали ферментный препарат целлюлазного (гемицеллюлазного действия), целловиридин 20 ГХ в дозе 0,1 $г/дм^3$. Контрольный образец (схема 1) готовили без ферментации мезги с соблюдением последовательности технологических операций указаных вариантах схема 1 и схема 2. В качестве контроля был выбран образец который был приготовлен по аналогичной схеме без применения ферментных препаратов.

В качестве второго купажного материала использовали сусло всех фракций винограда сорта Ркацители из которого готовили уваренное сусло. При этом эту операцию проводили в открытых эмалированных котлах с коровой рубашкой и получали уваренное сусло с сахаристостью 65-70 $г/100см^3$.

Далее все материалы в отдельности смешивали уваренным суслом в соотношении 80:20, после чего полученный купаж подвергали обработке согласно принятым технологическим приемам.

Полученные десертные вина типа малаги имели темно-красный цвет, приятный букет, во вкусе чувствовалось гармоничность с тонами шоколада.

Химический состав десертных виноматериалов типа малаги приведена в таблице 1.

Таблица 1. Общий химический состав вина

Схема опыта	Химические и физико-химические показатели, характеризующие виноматериалы							Дегустационная оценка, балл
	Общие фенольные вещества мг/дм^3	Альдегиды, мг/дм^3	Приведенный экстракт, мг/дм^3	Пентозы ,г/дм^3	Олигосахариды, мг/дм^3	Азот аминокислот, мг/дм^3	Белок, мг/дм^3	
Схема № 1 (контроль купаж, виноматериал + уваренное сусло	915,9	35,1	25,9	2,4	2,0	280	25	7,9
Схема № 2 купаж: виноматериал полученный с использованием ферментного препарата Ультразим + уваренное сусло	1499,8	41	49,1	3,5	2,9	335	36	8,3
Схема № 3 купаж: виноматериал полученный с использованием ферментного препарата Целловиридин 20 ГХ + уваренное сусло	1526,9	44	53,2	3,8	3,2	367	38	8,5

Анализ химического состава полученных вин показала, что опытные образцы отличались высоким содержанием компонентов экстракта, повышенным значением кинематической вязкости, содержанием которая играет важную роль при сложении полноты вин типа малаги.

Вина полученные с использованием ферментных препаратов имели более темно-красный цвет, приятный букет и гармоничный вкус. Существенными факторами, влияющими на качество вин типа малаги, являются длительность настаивания мезги, либо подогрева мезги, а также использование ферментных препаратов.

Выводы: Вина, полученные с использованием ферментных препаратов, отличаются лучшим сочетанием содержания различных компонентов, которые играют определяющие сложение полноты вин. Установлено, что определяющую роль в сложении полноты вин играют низкомолекулярные углеводы и глицерин.

Список литературы

1. Кишковский З.Н. Мержаниан А.А. Технология вина М: Легкая и пищевая промышленность, 1984.

2. Валуйко Г.Г. Виноградные вина. М: Пищевая промышленность, 1980.

3. Методы технологического и микробиологического контроля в виноделии. М: Пищевая промышленность, 1980, 210 с.

4. Гержикова В.Г. Методы технохимического контроля в виноделии. Симферополь, Таврида, 260 с., 2002.

5. Бурцев Б.В. Физико - химическое обоснование и совершенствование технологии специальных вин типа малаги Автореферат канд.дисс., Краснодар, 2006, 23.

ФОРМИРОВАНИЕ ПЕРЕКИСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В МАСЛЕ ГРЕЦКОГО ОРЕХА (*JUGLANS REGIA L)* В ПРИСУТСТВИИ ОКТИЛГАЛЛАТА И ВОДЫ

Оксана Раду

Технический Университет Молдовы, г. Кишинёв, Республика Молдова

Аннотация: Скорость деградации растительных масел, богатых полиненасыщенными жирными кислотами, может быть снижена посредством применения антиоксидантов. Помимо непосредственного воздействия, предполагалось совместное влияние антиоксидантов и следов воды в масляных композициях. Проводился полный двухуровневый двухфакторный эксперимент (ПФЭ 2^2). Анализ кинетики перекисного числа показал, что следы воды отрицательно влияют на эффективность антиоксиданта н-октилгаллата в композициях, содержащих масло грецкого ореха холодного отжима.

Ключевые слова: масло грецкого ореха, полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), стабильность, перекисное число, н-октилгаллат, ПФЭ.

Введение. Растительные масла, полученные методом холодного прессования из качественного исходного растительного сырья, являются богатым источником биологически активных веществ, среди которых особую ценность представляют полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Однако, расширение ассортимента продуктов питания путём использования нерафинированных растительных масел (масла грецкого ореха, масла виноградной косточки и др), встречает определенные трудности. С ростом количества непредельных связей масляная композиция более подвержена процессам окисления, полимеризации и гидролиза. Основными факторами, отрицательно влияющими на стабильность ПНЖК в составе масел, являются повышенная температура, контакт масел с кислородом и ультрафиолетовое излучение [10].

Таблица 1. Содержание ненасыщенных жирных кислот в некоторых растительных маслах регионального и нерегионального происхождения

Тип растительного масла	UA, MD, RO	Жирные кислоты, %				ненасыщенные / насыщенные
		Насыщенные	Ненасыщенные			
			C18:1 олеиновая, ω_9	C18:2 линолевая, ω_6	C18:3 линоленовая, ω_3	
грецкого ореха [11]	+	9.05	15.82	64.69	10.13	11
виногр. кост. [7]	+	12.6	15.1	71.7	0.6	7.3
оливковое [8]	-	16.2	67.3	13.1	0.6	4.6
пальмовое [4]	-	49.48	40.49	9.25	0.5	1.0
какао [12]	-	72.33	22.78	4.88	-	0.4
кокосовое [2]	-	90.90	7.41	1.69	-	0.1

Значения соотношения ненасыщенных/насыщенных жирных кислот показывает очевидное преимущество масел, производимых в нашем регионе. Особенно это касается ценности масла грецкого ореха по сравнению с оливковым, а тем более, с пальмовым и кокосовым маслами (таблица 1).

Одним из самых распространённых и эффективных способов стабилизации ПНЖК является использование жирорастворимых антиоксидантов, которые одновременно являются поверхностно-активными веществами, т.е. концентрируются на границе раздела фаз. Поэтому представляет интерес исследование совместного влияния стабилизатора и следовых количеств воды, присутствующих в масляной композиции.

Материалы и методы исследования. Масло грецкого ореха было получено методом холодного прессования из орехов сорта «Когылничану» урожая 2015 года, Государственное Лесное Хозяйство «Яргара», Республика Молдова. Антиоксидант н-октилгаллат (*n-Octyl Gallate*, OG) был выбран, как лучше зарекомендовавший себя для стабилизации масла грецкого ореха, чем широко используемые антиоксиданты:

рацемат *α*-токоферолов (*DL-α-Tocopherol*, DLTP) и 6-пальмитат-*L*-аскорбиновой кислоты (*L-Ascorbic Acid 6-Palmitate*, AAP) [1], причём стабилизирующая способность этих антиоксидантов возрастала в ряду DLTP < AAP < OG [5].

Масло, насыщенное водой, отстаивалось в течение суток при 4-6 ^{0}C. Содержание воды в полученной таким образом прозрачной масляной фазе не превышало 0,3 % [3]. Обезвоженное масло получали сушкой над безводным сульфатом натрия при той же температуре с последующей декантацией. Эксперимент проводился по стандартному плану ПФЭ 2^2 [6] (таблица 2). Полученные композиции вносились в герметичные одноразовые полиэтиленовые ампулы, добиваясь отсутствия воздушной прослойки. Ампулы хранились в тёмном месте и вскрывались непосредственно перед измерениями.

Таблица 2. Масляные композиции с водой и OG.

Фактор		Композиция, N							
		1		2		3		4	
Ореховое масло, г	X_0	+	20	+	20	+	20	+	20
Вода, %	X_1	-	0	+	0,3	-	0	+	0,3
Октилгаллат, мг	X_2	-	0	-	0	+	2	+	2
Взаимодействие	X_{12}	+		-		-		+	

В композициях исследовались значения перекисного числа [9], отражающего накопление первичных продуктов окисления масла. Строились и анализировались кинетики процесса окисления композиций.

Результаты и обсуждение. В течение первых 40 дней эксперимента при температуре хранения масляных композиций равной 20 ^{0}C все пробы характеризуются высокой стабильностью: перекисное число не превышает значения равное 1,25 ммоль (½O) /кг (масла), при максимально допустимом – 15 ммоль (½O) /кг(масла) [1] (рисунок 1). Более того, этот показатель снижается за 28 дней в среднем на 0,5 ммоль (½O) /кг (масла) в случае композиций с N=3 и N=4, что соответствует наличию в них антиоксиданта OG.

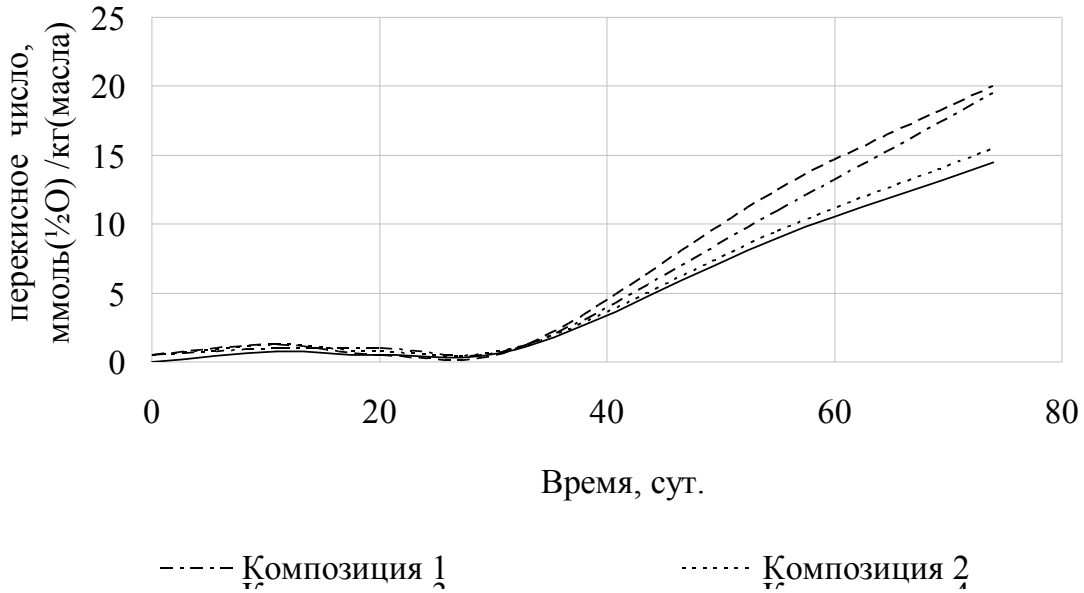


Рис. 1. Сравнительный анализ динамики окисления масляных композиций

Ситуация резко меняется при повышении температуры хранения масла на 10 ^{0}C. Перекисное число начинает почти линейно увеличиваться, причём в композициях с N=2 и N=3 это происходит значительно медленнее, чем в композициях с N=1 и N=4. Обезвоженное масло без антиоксиданта (N=1) и насыщенное водой с антиоксидантом (N=4) имеют наивысшие показатели перекисного числа. В масле, насыщенном водой и без антиоксиданта (N=2), вода связывает гидропероксиды, сталкивается с их продуктами распада и, таким образом, препятствует окислению [13]. Наиболее устойчивым остается обезвоженная композиция с добавлением н-октилгаллата (N=3).

Выводы. При температуре хранения 20 ^{0}C присутствие остатков воды в нерафинированном растительном масле не имеет ключевого влияния на процесс его окисления. Исследование при 30 ^{0}C также не подтвердило прямого влияния воды. Однако, достоверно обнаружено, что фактор взаимодействия X_{12} является значимым, т.е., совместное присутствие воды и октилгалата способствует накоплению перекисных соединений в ореховом масле. Поэтому, при существовании рисков хранения масляных композиций,

стабилизированных антиоксидантами, при высоких (летних) температурах, рекомендуется предварительно осуществлять его глубокое обезвоживание.

Список литературы

1. Codex Alimentarius. *Codex standard for edible fats and oils not covered by individual standards*. CX-STAN 19-1981. FAO and WHO, rev.2, 1999.
2. Euro-asian council for standardization, metrology and certification. *Coco-nut oil. Specifications.* EASC, Minsk, 2013.
3. ГОСТ 18848-73. *Масла растительные. Показатели качества*. Термины и определения. Дата введения: 1974-06-30. Опубл.: Москва, Стандартинформ, 2005. 5 стр.
4. ГОСТ 31647– 2012. *Масло пальмовое рафинированное дезодорированное для пищевой промышленности. Технические условия.* Дата введения: 2013-07-01. Опубл.: Москва, Стандартинформ, 2013. 16 стр.
5. BAERLE A., POPOVICI C., RADU O., TATAROV P. *Effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of cold pressed walnut oil.*Journal of Food and Packaging Science, Technique and Technologies. Year V, №9, Plovdiv, 2016. p.19-25
6. BAERLE A., MACARI A. *Modelarea matematică a experimentului*. Suport teoretic de curs. Chişinău: „Tehnică" UTM, 2014.
7. LUQUE-RODRIGUEZ J.M., LUQUE DE CASTRO M.D., PEREZ-JUAN P. *Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane*. Talanta, 2005. p.126–130
8. NAZ S., HINA S., RAHMANULLAH S. *Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions*. Food Chem. 88, 2004. p.253–259
9. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Method Cd 8-53. *Peroxide value*. Champaign: AOCS Press, 2003.
10. TATAROV P., SANDULACHI L. *Chimia produselor alimentare, ciclu de prelegeri*, Partea II. Chişinău: „Tehnică-UTM", 2008.
11. UZUNOVA G., PERIFANOVA-NEMSKA M., STOJANOVA M., GANDEV St. *Chemical composition of walnut oil from fruits on different years old branches.* Bulgarian Journal of Agricultural Science, 21 (No 3) 2015. p.494-497
12. ZZAMAN W., ISSARA U., FEBRIANTO N., YANG T. *Fatty acid composition, rheological properties and crystal formation of rambutan fat and cocoa butter*. International Food Research Journal V. 21, part 3, 2014 p.1019-1023.

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ НА МИКРОБИОТУ ХЛЕБА С ДОБАВЛЕНИЕМ КУКУРУЗНОЙ МУКИ

Сильвия Рубцов, Валентина Бантя-Загаряну

Технический Университет Молдовы, г. Кишинев, Молдова

Аннотация. Целью данного исследования является анализ влияния добавок из кукурузной муки и других производственных факторов на микробиоту хлеба. Был проведен микробиологический анализ сырья: пшеничной муки высшего сорта и кукурузной муки. Кроме того, были исследованы рабочие поверхности, инвентарь, оборудование, а также воздух со склада муки и из производственного отдела, с целью определения источника болезни хлеба.

Ключевые слова: пшеничная мука, кукурузная мука, производственные факторы, микробиота хлеба.

Введение. Качество хлебобулочных изделий обусловлено свойствами компонентов, входящих в их состав, и процессами, протекающими при приготовлении полуфабрикатов, выпечке тестовых заготовок и хранении готовых изделий [2].

Микрофлора хлебопекарного производства делится на полезную и вредную. К полезной относятся дрожжи и молочнокислые бактерии, применяемые для приготовления теста. Вредной является микрофлора, поступающая с сырьем и вызывающая нарушение технологического процесса, снижение качества и порчу продукции. При хранении хлеба могут протекать негативные микробиологические процессы, приводящие к заметному ухудшению качества продукции. В результате проявления таких видов микробиологической порчи, как плесневение, картофельная и меловая болезни,

хлебобулочные изделия теряют товарный вид, приобретают качества, способные нанести урон здоровью потребителя [3].

Микроорганизмы, вызывающие заболевания хлеба, попадают в готовые изделия из муки, воды, вспомогательного сырья, из воздуха, с поверхности оборудования, лотков, с рук и одежды работников предприятий.

В соответствии с требованиями современного законодательства, за стабильность показателей, характеризующих качество и безопасность продукции, несет ответственность производитель, который обязан еще на стадии разработки и постановки продукта на производство прогнозировать изменение его свойств в процессе хранения.

Поэтому вопросы исследования микробиологической порчи хлеба, вызываемой различными микроорганизмами, и вопросы поиска путей борьбы с этим явлением никогда не теряют своей актуальности [1].

Материалы и методы исследования. Для проведения микробиологического анализа были использованы следующие материалы: пшеничная мука высшего сорта; кукурузная мука; хлеб с добавлением кукурузной муки (пробная выпечка); а также: рабочие поверхности, инвентарь, оборудование.

Для оценки степени загрязнения муки спорообразующими бактериями - агентами инфицирования, использовали метод посева на твердые питательные среды – МПА и Sabouraud [5]. После термостатирования образцов был проведен качественный и количественный анализ посевов.

Результаты и обсуждения. Микроскопический анализ показал наличие анаэробных бактерий, вегетативных клеток и спор. В зависимости от количества споровых бактерий в пробах, оценивается качество муки в соответствии со следующими значениями.

Количество микроорганизмов в муке зависит от условий транспортировки и хранения, качества упаковки и других факторов. Было установлено, что в муке с влажностью 14,0 %, которая хранилась при нормальных условиях в мучных бункерах, не происходит размножение микроорганизмов и постепенно даже происходит уменьшение их количества. Виды плесени, которые растут преимущественно в муке, принадлежат к видам: *Penicillium (P. expansum), Aspergillus (A. repens, A. oryzae, A. flavus, A. amstelodami), Mucor (M. mucedo)* и *Rhizopus (R.stolonifer)*; некоторые из них при определенных условиях могут производить микотоксины [2]. При изучении посевов пшеничной муки обнаружено развитие микроорганизмов в незначительном количестве, считаем их происхождение случайным.

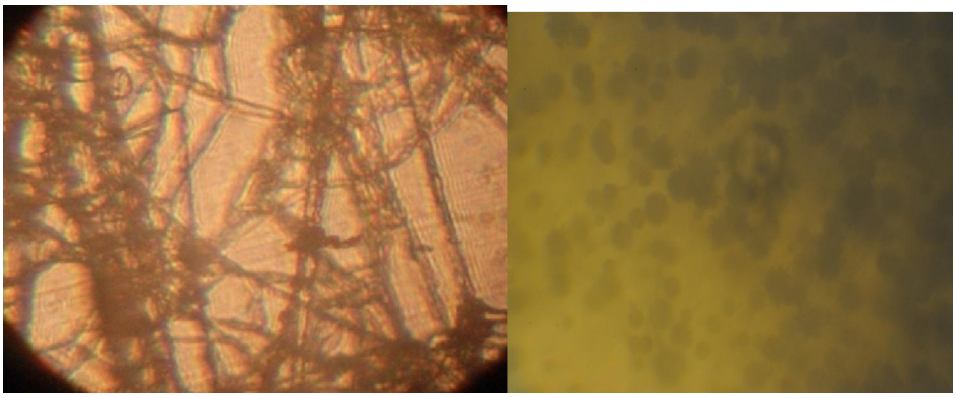
Таблица 1. Определение степени загрязнения муки спорообразующими бактериями

Качество муки	Количество споровых бактерий/г муки
Нормальное качество муки	0-200
Средне загрязненная мука	200-1000
Сильно загрязненная мука	больше 1000

В образце ПМ (пшеничная мука высший сорт) обнаружен *Mucor (M. mucedo)*. Белая плесень сапрофитной гетеротрофной формы, образует плотную белую волосистую массу на поверхности питательной среды. *Mucor mucedo* предпочитает селиться на субстратах, богатых углеводами – хлебе, молочных продуктах, варенье, сладких фруктов, но колонизирует и другие субстраты – мясо, творожные продукты [3]. Изображения мицелия *Mucor* из образца муки, используемой для производства хлеба, показаны на рисунке 1.

Экспериментально установлено, что влажность пшеничной муки 14,5 %, а количество спорообразующих бактерий на грамм муки составляет менее 200,

что означает, что используемая на производстве мука является нормального качества и соответствует требованиям пшеничной муки высшего сорта.



а) б)

Рис. 1. Развитие *Mucor* мицелия *(M. mucedo)* в пшеничной муке на питательной среде

а) МПА и б) Sabouraud (микроскопический вид).

Образец КМ (кукурузная мука) показал наличие *Fusarium graminearum* (рис. 2). Колония *Fusarium graminearum* имеет плотный, волосистый внешний вид, которая быстро распространяется в чашке. Оптимально развивается при температуре 24-26°C и pH=6,7-7,2. Он широко распространен в природе и является фитопатогенном злаков, вызывает гниение пшеницы и кукурузы, может производить микотоксины [1, 2].

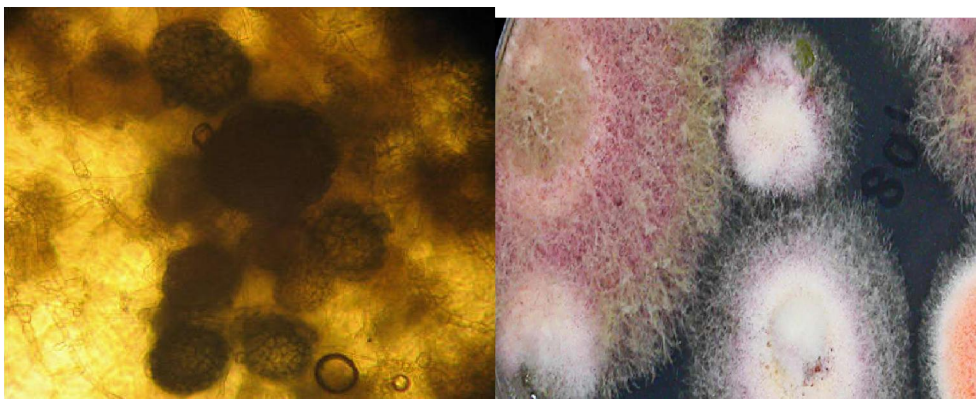


Рис. 2. Развитие *Fusarium* мицелия *(F. graminearum)* в кукурузной муке на питательной среде МПА (фотонная микроскопия)

Влажность кукурузной муки, находится в пределах нормы, 14,2 %, а кислотность немного выше, 3,8 градусов, это означает, что мука хранилась долгое время в неблагоприятных условиях у поставщика или в складах производственной компании. В этом случае качество муки ставится под сомнение и необходимо изменить поставщика кукурузной муки.

Другим фактором, который может привести к развитию микробных заболеваний в выпекаемом хлебе, являются оборудование и используемый на предприятие инвентарь.

Технология производство хлеба с добавлением кукурузной муки требует процесса ошпаривания кукурузной муки водой при температуре 40-50 °С в чистой, но не стерилизованной емкости, которая используется и на других технологических операциях. Затем смесь охлаждается до комнатной температуры, 25-30 °С. Были проанализированы возможные случаи инфекции, для исследования были взяты образцы из используемой емкости, методом смыва. Пробы должны быть репрезентативными и не допускать изменения состава и качества воды. После термостатирования делают количественный и качественный анализ микрофлоры. В результате было установлено наличие бактерий рода *Bacillus*.

Микробиологический анализ инвентаря (емкости для ошпаривания кукурузной муки) выявил наличие бактерий рода *Bacillus*, которые относятся к семейству *Bacillaceae*. В род *Bacillus* включены грамположительные бациллы, аэробные, факультатив анаэробные, неподвижные, споровые, которые очень устойчивы к условиям окружающей среды. Споры бактерий встречаются обычно в земле и попадают на верхнюю часть растений и злаковые культуры. Интенсивное промывание пшеницы может уменьшить степень загрязнения, но эффективность этого метода является довольно низким, поэтому редко используется в современной практике. Наиболее распространенным решением является смешивание зараженных партий пшеницы с неинфицированными партиями в пропорции, которые определяются экспериментально [4].

Для проверки гигиены процесса и критериев безопасности пищевых продуктов, образцы должны быть взяты из области переработки, транспортировки и реализации продуктов питания.

Микробиологический контроль воздуха производится для рабочих областей и зон хранения продуктов. Общее количество микробов в воздухе в производственных помещениях составило 10^2-10^3 клетки/ м³ воздуха [4]. Микробиота представлена *Bacillus, Streptococcus, Pseudomonas.*

Результат анализа воздуха на предприятии считается удовлетворительным, если все полученные значения указывают на отсутствие грибов в складе для муки, а также в производственном отделе.

Микробиологический контроль образца хлеба с добавлением кукурузной муки выявил бактерии родов *Micrococcus*, *Pseudomonas, Rhizopus Arrhizus, Fusarium Graminearum, Rhizopus Oryzae, Aspergillus Niger, Bacillus mesentericus*. Поверхность хлеба покрыта полностью плесенью, которая видна на рисунке 3.

Рис. 3. Развитие плесени и тягучей болезни хлеба (*Bacillus mesentericus*)

Выводы. Для определения причины появления заболевания картофельной болезнью, проанализированы с микробиологической точки зрения первичные источники заражения. В первую очередь проанализировали использованное сырье - пшеничную муку высшего сорта и кукурузную муку, затем технологическое оборудование, которое имеет непосредственный контакт

с тестом. Был проведен микробиологический контроль воздуха с рабочих мест и со складов для хранения продуктов.

По полученным результатам можно заключить, что степень заражения воздуха из рабочих цехов и со складов незначительна, то есть использование кварцевых ламп может быть использована как профилактический метод, но не является обязательным. Микробиологический анализ технологического оборудования, а также пшеничной муки показали средние признаки микробиологического развития родов *Mucor* и *Bacillus*, в незначительных количествах, что позволяет считать их происхождение случайным.

В образце кукурузной муки было замечено большое количество развитых колоний. Даже если влажность муки в пределах нормы, ее кислотность повышена, то, что может говорить о том, что мука хранилась больше срока и в неблагоприятных условиях у поставщика или в помещениях предприятия, то есть она заражена и ее качество поставлено под сомнение.

Список литературы

1. *Афанасьева О. В.* Микроорганизмы вредители хлебопекарного производства. - М.: Пищевая промышленность, 1976. - 143 с.

2. *Вербина, Н. М., Каптерева Ю. В.* Микробиология крупы, муки, макаронных изделий и хлеба. – М.: Агропромиздат, 1988.- 350 с.

3. *Еремина, И.А., Лузина, Н.И., Кригер, О.В.* Микробиология продуктов растительного происхождения. Учебное пособие/ Кемеровский технологический институт пищевой промышленности.- Кемерово, 2003.- 87 с.

4. *Лексаков С.* Грибковая обсемененность на предприятиях отрасли// Хлебопродукты, 2003, №3, с. 40-41.

Львова, Л.С., Яицких, А.В. Источники загрязнения зерна спорообразующими бактериями – возбудителями “картофельной болезни” хлеба. М. Хлебопродукты, № 9, 2013, -73 с.

ЗАЛІЗОЗВ'ЯЗУЮЧИЙ БІЛОК ЛАКТОФЕРИН: БІОЛОГІЧНА РОЛЬ, МОЖЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ ТА ПРАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

Наталія Самотьос, Оксана Скроцька

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. This article is a review of recent researches dedicated to the properties of lactoferrin. The analysis of the impact of lactoferrin on the human organism and individual cells was shown. The feasibility of establishing of dietary supplements which contains lactoferrin was discussed.

Keywords: lactoferrin, iron, dietary supplements.

Вступ. Лактоферин належить до сімейства білків трансферинів, які здійснюють перенесення заліза до клітин і контролюють рівень вільного заліза в крові і в зовнішніх секретах. Даний білок є у нейтрофільних гранулах, молоці й слизових секретах. Нині показана значна роль лактоферину в гомеостазі заліза – найважливішого мікроелементу, що входить до складу крові, а також необхідний для процесів росту організму і регуляції імунної системи. Залізо входить до складу ферментів, що приймають участь у синтезі ДНК; міститься у печінці, де приймає участь у знешкодженні токсинів; впливає на метаболізм вітамінів групи В; забезпечує транспортування кисню в організмі; необхідний для утворення гемоглобіну і міоглобіну. Лактоферин здатний індукувати вивільнення заліза з тканин у кровотік завдяки механізму мобілізації заліза. Пероральне застосування лактоферину може підвищувати рівні гемоглобіну, феритину, загального заліза в сироватці крові, а також збільшувати кількість еритроцитів.

Викладення основного матеріалу. Розглянемо докладніше фізіологічні властивості лактоферину в організмі. Найбільш вивчена функція – регуляція концентрації іонів заліза в організмі, що є життєво необхідним, оскільки залізо бере участь у багатьох метаболічних процесах. Лактоферин виступає як фактор,

що лімітує вміст заліза, доступного для мікроорганізмів. Зв'язуючи іони «зайвого» заліза та інших металів, лактоферрин позбавляє патогенну флору життєво важливих мікроелементів.

Лактоферин не лише регулює концентрацію іонів заліза в крові і секретах, але й володіє яскраво вираженою антимікробною та антивірусною дією. Він бере участь у захисних реакціях організму і регулює функції імунокомпетентних клітин. Однією з найбільш цікавих властивостей лактоферину є взаємодія з поліаніонами: гепарином, ДНК і РНК. Крім того, лактоферин проникає в ядра клітин, зв'язується зі специфічними послідовностями ДНК і активує процеси транскрипції [1].

Переважна локалізація лактоферину в секреторних рідинах вказує на те, що основна функція цього білка – захист організму від ентеральних інфекцій, він має здатність пригнічувати широкий діапазон мікробних агентів, незалежно від здатності зв'язувати залізо. Найбільш вивченим механізмом антимікробної активності лактоферину є його специфічна взаємодія із зовнішньою бактеріальною мембраною, що призводить до загибелі бактеріальних клітин [2].

Крім прямої антимікробної дії, лактоферин може впливати на запальний процес, викликаний мікробною інфекцією. Це підтверджується експериментами, в яких показано, що лактоферин запобігає розвитку гастритів, викликаних *Helicobacter pylori*, захищає цілісність слизової кишківника від впливу бактеріального ліпополісахариду, знижує токсичність і навіть смертність при високому інфікуванні ентеротоксічними штамами *Escherichia coli* [3].

Лактоферин володіє також і протигрибковою активністю. Наприклад, проти *Candida albicans*, симбіонти яких утворюють колонії в слизовій оболонці ротової порожнини здорових людей. Протигрибкова активність лактоферину забезпечується руйнуванням клітинної стінки і зв'язуванням даного білку з плазматичною мембраною *C. albicans* [4].

На сьогоднішній день лактоферин отримують з козячого, коров'ячого та верблюжого молока, при цьому для його очищення використовують іонообмінні колони і мембранну фільтрацію. Ведуться роботи щодо промислового отримання рекомбінантного лактоферину з молока трансгенних корів (Південна Корея, Голландія) та трансгенних кіз (Білорусія).

У деяких країнах (США, Японія) тривають дослідження щодо отримання рекомбінантного лактоферину людини за допомогою мікроскопічних грибів (*Aspergillus awamori, Aspergillus oryzae*) та рослин (тютюн, картопля, рис). На сьогоднішній день у продажу є лактоферрин людини, отриманий за допомогою грибків роду *Aspergillus*, а також з рису. Компанія Agennix (США) виконала дослідження щодо створення рекомбінантного лактоферину людини з використанням *A. awamori*, але біодоступність даного препарату є нижчою 0,5 %. Внаслідок відмінностей в механізмах посттрансляційної модифікації в клітинах нижчих і вищих еукаріот лактоферин, отриманий за допомогою *A. awamori*, структурно і функціонально відрізняється від природного. Більш того, використання грибів роду *Aspergillus* для продукції рекомбінантних білків пов'язане з високим ризиком забруднення афлатоксинами, які є потенційними канцерогенами [5].

Основним джерелом лактоферину є молочні продукти, але вони не завжди присутні в раціоні щоденного харчування. Тому ряд компаній розробляють біологічно активні добавки (БАД) на його основі. Для створення БАД використовують лактоферин різного походження, при цьому дані препарати забезпечують противірусний, протибактеріальний та протигрибковий захист організму. Основною особливістю лактоферину, що визначає спектр його властивостей – це є здатність специфічно зв'язувати іони заліза, а також деяких інших металів перехідної групи. Функції, в основі яких лежить комплексоутворююча здатність лактоферину – детоксикаційна, транспортна, антимікробна. Нижче представлена характеристика деяких біологічно активних добавок, в складі яких присутній лактоферин (табл).

Таблиця 1. Деякі біологічно активні добавки, що містять лактоферин

Назва препарату (форма випуску) / країна	Кількість лактоферину / склад БАД	Рекомендації щодо застосування
Лактоферин голд 1.8 (капсули) / США	лактоферин (67,5 мг / 1 капсулу), інулін, вітамін С екстракт жовтокореня канадського, гідрокарбонат натрію, полісорбат	Нормалізація роботи шлунково-кишкового тракту, профілактика гастриту, виразкової хвороби шлунку і дванадцятипалої кишки; формування нормальної мікрофлори кишечника; зміцнення імунітету при імунодепресії, викликаної перевтомою, стресами, несприятливою екологією;
Форевер Імубленд (таблетки) / США	лактоферин (кількість не вказано), вітамін С, вітамін D3, цинк, гриби шиітаке	Нормалізація і поліпшення функцій печінки; в якості профілактики онкологічних захворювань; для відновлення організму після операції, хіміо- і променевої терапії, при високих фізичних навантаженнях; для підвищення життєвого тонусу і працездатності; профілактика артриту, гіпертонічної хвороби, передчасного старіння організму.
New Zealand Colostrum with Lactoferrin & Pectin (капсули) / Нова Зеландія	лактоферин (75 мг / 1 капсулу), молозиво	При пониженому імунітеті, для позбавлення від вільних радикалів.
КолАктів3 (капсули) / Ірландія	лактоферин (1 мг / 1 капсулу), молозиво коров'яче; ацидофільні бактерії	При синдромі хронічної втоми, розсіяному склерозі, ревматизмі, хворобі Альцгеймера; як профілактика шкіряного туберкульозу, склеродермії; хронічної інфекції, запалення сечовивідних шляхів, молочниці; дисбактеріозі; різного роду порушеннях роботи шлунково-кишкового тракту.
Ternimax (капсули) / Фінляндія	лактоферин (4 мг / 1 капсулу), імуноглобуліни, лізоцим, лактопероксидаза	Спортсменам і людям, які підтримують фізичну форму для покращення спортивних результатів і швидкого відновлення сил; для людей зі зниженим імунітетом; літнім особам для поліпшення загального самопочуття; для запобігання шлунково-кишкових захворювань

Висновки. Властивості лактоферину (антибактеріальна, противірусна, протигрибкова, протизапальна, імуномодуляційна, антиоксидантна активність) відкривають широкі можливості для використання даного білка, як терапевтичного агента, при різних захворюваннях. Тому досить актуальним завданням є вдосконалення існуючих та розробка нових способів його отримання з метою використання у біологічно активних добавках, а також препаратах медичного та ветеринарного призначення.

Список літератури

1. *Gorbunov D.V., Karataeva N.A., Buneva V.N., Nevinsky G.A*. Lipid kinase activity of antibodies from milk of clinically healthy human mothers // Biochim Biophys Acta. – 2005. – Vol. 1735(3). – P. 153-166.

2. *Mazurier J., SpikG*. Comparative study of the iron-binding properties of human transferring. Complete and sequential iron saturation and desaturation of the lactotransferrin // Biochim. Biophys. Acta. – 1980. – Vol. 629(2) – P. 399-408.

3. *Ward P.P., Paz E., Conneely O.M.* Многофункциональность лактоферрина: критический обзор [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.narvac.com/art_laktoferrin2.htm

4. *Lupetti A., Paulusma-Annema A., Welling M.M. et al.* Synergistic activity of the N-terminal peptide of human lactoferrin and fluconazole against *Candida* species // Antimicrob. Agents Chemother. – 2003. – Vol. 47(1). – P. 262-267.

5. Зорин Н.А., Лыкова О.Ф., Кошеве Т.В. Возможная роль специфических реакций полифункциональных белков семейства микроглобулинов и лактоферрина с рецепторами и лигандами в защите организма от патогенов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2007. – № 2. – С. 53-57.

МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ВЕРШКОВОГО КРЕМУ РІЗНОЇ РЕЦЕПТУРИ

Олена Українець, Наталія Грегірчак

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The research of butter cream with sodium alginate was carried out. Changes of microbiological contamination of butter cream were tested during storage: quantity of mesophyll aerobic and facultative anaerobic microorganisms (qMAFAM), presence of coliform bacteria, *Staphylococcus aureus* and mold fungi. Comparative evaluation of butter cream, stored at 0-8 ˚C and at 22±2 ˚C.

Keywords: confectionery, butter cream, microbiological safety, sodium alginate.

Вступ. На сьогоднішній день ринок кондитерських виробів різноманітній за своїм складом, технологією виготовлення і вживаній для їх виробництва сировині. Вироби стали більш конкурентоспроможними, підвищилися вимоги до асортименту, якості, тривалості, терміну придатності. Безпека продукції стала одним з основних, пріоритетних факторів, що впливають на вибір покупця. Адже це гарантія того, що продукт не завдасть шкоди споживачеві, коли він готується або вживається у відповідності зі своїм призначенням [1].

Широкого застосування набули вершкові креми, які використовують здебільшого для виготовлення тортів і тістечок, але вони мають низьку харчову цінність внаслідок невеликого вмісту вітамінів, мікро- та макроелементів. Для досягнення структурно-механічних та мікробіологічних показників якості кремів із зниженим вмістом цукрів, які мають високу калорійність, пропонується введення природних структуроутворювачів – пектинів з різним ступенем метоксилювання. Крім пектинів використовується також альгінат натрію. Відомо, що

альгінат натрію у рецептурі кремів дозволяє зменшити кількість цукрів, а також покращує та знижує рівень глюкози й холестерину в крові [2]. Тому розробка нових технологій кремів зі зниженою цукромісткістю та підвищеним вмістом біологічно-активних речовин є актуальним.

Проте, кремові вироби є хорошим поживним середовищем для розвитку мікроорганізмів. Крім різних сапрофітних, аеробних, спорових і безспорових бактерій, дріжджів в кремах можуть бути присутніми патогенні мікроорганізми, що може послужити причиною харчових отруєнь [3].

Розвиток мікроорганізмів, тобто швидкість їх росту, залежить від складу, властивостей продукції, умов навколишнього середовища. В першу чергу швидкість росту визначає наявність вологи, доступної для мікроорганізмів. Тому одним з головних факторів, що впливає на якість та мікробіологічну безпечність кондитерських виробів є показник активності води aw. Зменшення показника активності води у продукті впливає на ріст мікроорганізмів. Тому додавання в рецептуру вершкового крему цукрів (особливо моносахаридів) є одним з способів забезпечення мікробіологічної безпечності кондитерських виробів. [1,4].

Температура так само помітно впливає на ріст мікроорганізмів. Деякі мікроорганізми краще розвиваються при високій температурі (40-50 °С), інші при низькій – 4 і 7 °С. Кожен тип мікроорганізмів має свою оптимальну температуру при якій найкраще відбувається їх розмноження. Відповідно, підвищення або зниження температури веде до уповільнення цього процесу.

Разом з сировиною до вершкового крему можуть потрапити різні мікроорганізми і невідомо як вони будуть взаємодіяти між собою [5].

Тому метою роботи є дослідження зміни динаміки мікробіологічних показників мікрофлори вершкового крему з додаванням альгінату натрію, як згущувача низької калорійності у рецептурі вершкового крему.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктом дослідження були зразки крему різної рецептури:

1 зразок – вершки 42,5 г, альгінат натрію 0,34 г, цукрова пудра 10,0 г;

2 зразок – вершки 42,5 г, альгінат натрію 0,34 г, фруктоза 9,9 г;

3 зразок – вершки 42,5 г, альгінат натрію 0,34 г, глюкоза 10,9 г.

Здійснювали порівняння мікробіологічних показників в процесі зберігання за температури 0-8 ˚С та шляхом створення провокаційних умов за температури 22±2˚С.

На кожному етапі досліджень зразків вершкового крему контролювали показник (кМАФАМ), який дозволяє визначити кількісний склад мікрофлори, а також провести аналіз морфотипів колоній мікроорганізмів на поживних середовищах, наявність таких санітарно показових мікроорганізмів, як бактерії групи кишкової палички (БГКП), золотистий стафілокок та мікрофлору псування: дріжджі і плісняві гриби. Крім того, в зразках перевіряли кількість спороутворювальних бактерій (СУБ), представники яких (*B. cereus*) є небезпечними для споживачів [6].

Досліджували креми при їх зберіганні через 24, 48, 72 та 96 год у відповідності з методиками, затвердженими Міністерством охорони здоров'я України і державними стандартами. При цьому їх регламентований термін зберігання становить 6 год при + 0-8 °С.

Результати і обговорення. Готували вершкові крема за рецептурою з різним вмістом цукрів, як згущувач використовували альгінат натрію. При цьому визначали кількість мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних бактерій (кМАФАМ) у процесі зберігання крему через 24, 48, 72 та 96 год, за температури 6-8 ˚С, а також проводили провокаційне тестування за температури 22±2 ˚С.

Таблиця 1. Мікробіологічні показники вершкового крему при зберіганні за температури 6-8 ˚С

Вершковий крем з цукром	кМАФАМ, КУО/г					Дріжджі та плісняві гриби, КУО/г	
	норматив	результат				норматив	результат
		24	48	72	96	100	Не виявлено
Цукрова пудра	5×10^4	2×10^4	4×10^4	3×10^4	2×10^4		
Фруктоза	5×10^4	2×10^4	3×10^4	3×10^4	2×10^4		
Глюкоза	5×10^4	2×10^4	5×10^4	6×10^4	2×10^4		

У процесі зберігання через 72 год (табл.1) у зразку вершкового крему з глюкозою спостерігається перевищення показника кМАФАМ порівняно з нормативом 5×10^4 КУО/г. Зменшення показника кМАФАМ на 4 добу, може бути пов’язано із зниженням рівня доступної вологи в продукті, тобто його підсиханням, що могло призвести до затримки росту і розмноження мікроорганізмів, а також викликати їх загибель. Адже розвиток мікроорганізмів, тобто швидкість їх росту, залежить від доступності вологи. [1,4].

Таблиця 2. Мікробіологічні показники вершкового крему при зберіганні за температури 22±2 ˚С

Вершковий крем з цукром	кМАФАМ, КУО/г					Дріжджі та плісняві гриби, КУО/г	
	норматив	результат				норматив	результат
		24	48	72	96	100	Не виявлено
Цукрова пудра	5×10^4	2×10^4	4×10^4	6×10^4	8×10^4		
Фруктоза	5×10^4	2×10^4	3×10^4	6×10^4	7×10^4		
Глюкоза	5×10^4	2×10^4	4×10^4	7×10^4	8×10^4		

При зберіганні вершкового крему за температури вище нормативної показник кМАФАМ у всіх виробах не перевищує норматив 5×10^4 КУО/г тільки протягом 2 діб. Таким чином, за результатами аналізу встановлено, що незалежно від вмісту цукрів всі зразки вершкового крему упродовж регламентованого терміну зберігання за різних температурних режимів відповідали санітарно-мікробіологічним нормам.

Порівнюючи мікробіологічні показники вершкового крему з різним вмістом цукрів, відмітили значно менший розвиток мікроорганізмів в зразках з фруктозою, ніж з глюкозою чи цукровою пудрою, що пов’язують з зниженням показника водної активності моносахаридами середовища [7]. Тому, доцільно саме фруктозу використовувати як складовий компонент вершкового крему, що значно знизить розвиток сторонньої мікрофлори у ньому.

Такі складники вершкового крему як цукри чи згущувач альгінат натрію, можуть містити різні групи мікроорганізмів, в тому числі споро утворювальні, і служити джерелом інфікування. Відомо, що спороутворювальні бактерії можуть спричиняти різноманітні несприятливі чинники на продукт і сприяти харчовому отруєнню [8]. Тому нами визначався вміст спороутворювальних бактерій за різних температурних режимів при зберіганні вершкового крему.

Відмічено, що в процесі зберігання вершкового крему збільшується кількість спороутворювальних бактерій від загальної кількості бактерій і досягається максимум через 96 год (табл. 3).

Таблиця 3. Вміст спороутворюючих бактерій від загальної кількості мікроорганізмів у вершковому кремі, %

Вершковий крем з	24 год	48 год	72 год	96 год
Цукрова пудра	10	33	65	95
Фруктоза	10	25	50	85
Глюкоза	30	50	85	100

Найменший відсоток спороутворювальних бактерій протягом усього терміну зберігання спостерігається у кремі з фруктозою, тому саме цей вуглевод доцільно використовувати при виготовленні вершкових кремів.

Золотистого стафілококу та БГКП у 0,01 г досліджуваних зразків не виявлено. Це свідчить про дотримання усіх належних санітарно-гігієнічних вимог при виготовлені вершкового крему.

Висновки. Отже, кремові вироби відрізняються за своїм мікробіологічним складом, який не змінюється в процесі зберігання. Встановлено, що підвищення температури в процесі зберігання суттєво не впливає на зміну показників кМАФАМ, бактерій групи кишкової палички, золотистого стафілококу, дріжджів та пліснявих грибів, при дотриманні санітарно-гігієнічних умов виготовлення продукту.

Список літератури

1. Олексієнко Н., Волощук Г. Мікробіологічні і не мікробіологічні фактори ризику для безпеки кондитерських виробів // Хлібопекарська і кондитерська промисловість України. – 2012. – № 10. – С. 3 – 5.

2. Іоргачова К.Г., Камбулова Ю.В., Федорова Д.В. Раціональне використання пектину і альгінату натрію в технології білкових кремів зниженої цукромісткості: Автореф. дис. – К., 2015. – 23 с.

3. Пількевич Н.Б., Боярчук О.Д. Мікробіологія харчових продуктів: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. – Луганськ: Альма-матер. – 2008. – 152 с.

4. Дорохович А.Н., Гавва Е. А. Сроки хранения кондитерских изделий, целесообразность и возможность их продления // Продукты & ингредиенты. – 2006. – №4. – С. 24-28.

5. Braun, P., Flahlahber,*K.* Predictive modeling of the combined effect of low temperature, aw, and pH on the activity of bacterial lipases // Milchwissenschaft. – Vol.58. – 2003. – P. 260-262.

6. Кручинин Г. Пищевые токсикоинфекции // Кондитерское и хлебопекарское производство. – 2008, №2. – С. 32-34.

7. Животовська А., Грегірчак Н.М. Мікробіологічна безпека пастильних виробів нової рецептури // Ukrainian Food Journal.– 2013. – №2. – С. 543-544.

8. Леонова И. Б. Некоторые проблемы пищевой микробиологии на примере кондитерских изделий // Фундаментальные исследования. – 2008. – №12. – С. 46-47.

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЛИНИЯ ПРОИЗВОДСТВА ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ

Мазахир Фарзалиев, Гюнаш Насруллаева

Азербайджанский Государственный экономический университет, г. Баку, Азербайджан

Аннотация. В статье исследована, системный анализ, междисциплинарный характер системных исследований. Пищевые технологии представляют собой системный анализ, знаний о способах воздействия различными орудиями труда на сырье, материалы и полуфабрикаты.

Ключевые слова: Системный анализ, сырье, хлебопекарные дрожжи, технологическая линия

Введение. Системные исследование является одним из наиболее результативных проблемный интегративных тенденций в науке. Специфика системных исследований состоит в их направленности на изучение сложных, комплексных, крупномасштабных проблем.

Материалы и методы исследование. В системном анализе исследованием ориентируется не только познание существа изучаемых проблем и соответствующих объектов, но на создание средств, позволяющих обеспечить рациональное управление этими объектами, существовать разрешению имеющихся проблем. В системном анализе находит отражение междисциплинарный характер системных исследований, реализуется современна форма синтеза научных знаний. Системный анализ занимается изучением объектов такой сложности, для описания которых приходится привлекать понятие изучаемых в рамках различных традиционных научных дисциплин.

В системных исследования декомпозиция невозможна, так как при этом могут потеряться основные свойства системы. Иными словами необходима,

учитывать системный эффект, когда совокупность объектов, объединенная в систему приводит к появлению новых свойств. Системный анализ имеет вполне определений систем, а именно он, представляет собой совокупность, методов исследование систем методики выработки и принятия решений при проектировании и управлении сложнейший объектами различной природы.

Системный анализ - это прежде всего, определений тик научно-технической деятельности, необходимый для исследования, разработки, управления сложенными объектами. [2]

Одним из таких сложным объектом для исследования методами системного анализа является производства качественной и безопасной пищевой продукции. Обеспечение производства качественной и безопасной пищевой продукции требует создание системы менеджмента управления качеством и безопасности пищевой продукции.

Известно, что в цели создания пищевой продукции участвуют организации, занимающийся производством кормов, первичным производством, непосредственным производством пищевой продукции, транспортированием и хранением, а также субпродукт, осуществляющие розничную торговлю пищевой продукции и обслуживание торговых точек. [1]. К цели создания пищевой продукции имеют отношение организации, производящие оборудование, упаковочные материалы, чистящие вещества, добавки и ингредиенты для пищевой продукции. К таким организациям следует относить и сервисные службы.

Мы изучали и получили некоторые результаты в системных анализов технологической линии производства хлебопекарных дрожжей.

Основные качество хлебопекарных дрожжей определяется требованиями технологии хлеба. Хлебопекарные дрожжи должны иметь плотную консистенцию, легко ломаться, обладать серым с желтоватым оттенком цветом и характерным дрожжевым запахом, пресным вкусом, содержание влаги нс более 75 %, кислотность (в пересчете на уксусную

кислоту) не более 120 мг на 100 г дрожжей в день выработки и не более 360 мг спустя 12 сут. Стойкость при температуре 35 °С дрожжей, выработанных на дрожжевых заводах, не менее 60 ч, а на спиртовых 48 ч, подъемная сила (подъем теста до 70 мм) не более 70 мин.

Дрожжевое производство основано на способности дрожжевых клеток (микроорганизмов) расти и размножаться. Биохимические процессы основные процессы в технологии хлебопекарных дрожжей, связанные с превращением питательных веществ культуральной среды при активной аэрации в клеточное вещество дрожжей. При аэрации дрожжи окисляют сахар питательной среды до воды и диоксида углерода (аэробное дыхание). Выделившаяся при этом тепловая энергия используется дрожжами для синтеза клеточного вещества и обменных процессов. В аэробных условиях в субстрате накапливаются значительно больше биомассы, чем при анаэробном дыхании.

Скорость их размножения и конечный выход продуктов обуславливает состав и концентрация питательной среды для культивирования дрожжей. Сахар используют для конструктивного и энергетического обмена дрожжей, азотистые соединения, зольные элементы и кислород воздуха.

Для получения хлебопекарных дрожжей на дрожжевых заводах складывается следующие стадии:

— приготовление питательной среды:

— выращивание маточных и товарных дрожжей;

— выделение товарных дрожжей из дрожжевой суспензии;

— формование и упаковка прессованных дрожжей;

— сушка дрожжей.

Что бы получать дрожжей из спиртовой бражки на спиртовых заводах проходит такие процессы как:

— выделение дрожжей из зрелой бражки сепарированием:

— промывание и концентрирование дрожжевой суспензии; ·

— дозревание дрожжей;

— окончательное промывание и концентрирование дрожжей;

— прессование, формование и упаковка дрожжей;

— хранение.

Для обработки сырья линия начинает с комплекса оборудования, состоящего из аппаратов для приготовления питательных сред, сепараторов-кларификаторов для мелассы и пароконтактных установок для стерилизации.[4]

Ведущим комплексом линии является дрожжерастильные аппараты, снабженные аэрационной системой для насыщения суспензии кислородом, и воздуходувные машины. [3].

После этого комплекс линии состоит из аппаратов для выделения дрожжей, в составе которого имеются дрожжевые сепараторы. фильтрпрессы и барабанные вакуум-фильтры.

Энергоемким комплексом оборудования линии являются сушильные установки, которые представленны конвейерными ленточными сушилками. установками с виброкипящим слоем, а также вакуумными и сублимационными сушилками.

Последним комплексом оборудования является линии из машин для формования и завертывания брикетов дрожжей.

Результаты и обсуждение. Согласно закону Азербайджанской Республике «о пищевой продукции» обеспечение безопасности пищевой продукции выполняет в двух поправления:

-безопасности пищевой продукции

- продовольственная безопасность населения

Первая направления предусматривает производства пищевой продукции гарантирующий жизнь деятельность и здоровья человека и отвечающим механическим, экологическим, санитарным, зоотехническим, фитосанитарным стандартом, нормам, правилам и требованиям.

Второе направление предусматривает продовольственный безопасность населения.

Выводы. При разработке системы менеджмента качества и безопасности пищевой продукции следует учитывать оба направление.

Систему менеджмента управления качеством и безопасности пищевой продукции можно определить по аналогии с соответствующими положениями стандарта ИСО 9000 как «систему для разработки и осуществления скоординированной деятельности по руководству и управлению организацией в целях обеспечения качеством безопасности и пищевой продукции». Система менеджмента управления качеством и безопасности пищевой продукции включает в себе следующие элементы, позволяющие обеспечит безопасность пищевой продукции во всей цели ее создание в плеть до стадии конечного употребления пищевой продукции в пищу:

-интерактивный обмен информации;

-системный менеджмент;

-программы предварительных обязательных мероприятий.

Обмен информацией, осуществляемый на этапах цели создания пищевой продукции на всех этапах ее создания. Это подразумевает обмен информацией методу организациями, работающими на всех этапах создания пищевой продукции. Обмен информаций методу потребителями в отношении идентифицированных опасностей и мероприятий по управлению позволит прояснить требования потребителей и постовошикав (например, оценить их выполнимость и необходимость, а также определить воздействие идентифицированных опасностей и мероприятия по управлению производством конечной продукции).

Список литературы

1. Анфилатов В.С., Емельянов А.А., Кукушкин А.А. Системный анализ в управлении: Учебное пособие / Под ред. А.А. Емельянова. — М.: Финансы и статистика, 2002. — 368 с.

2. Льноградский Л.А. Концепция системного проектирования. — Самара: Изд-во Самарского гос. тех. ун-та, 2005. — 180 с.
3. Панфилов В.А., Уроков О.А. Технологические линии пищевых производств: создание технологического потока.- М : Пищевая промышленность, 1996 - 47 2 с.
4. Система научного и инженерного обеспечения пищевых и перерабатывающих отраслей А ПК России / А.П. Богатырев, В.А. Панфилов, В.И. Тужилкин и др.- М.: Пищевая промышлен ность, 1995.-52 8 с.

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ КОМПОЗИЦІЙ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ ТІОСУЛЬФОКИСЛОТ ТА БІОПАР ЩОДО ФІТОПАТОГЕНІВ *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS* ТА *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS*

Володимир Швець, О. В. Карпенко, І. В. Карпенко

Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАНУ

В. І. Лубенець, В. П. Новіков

Національний університет "Львівська політехніка"

Abstract. The investigation *in vitro* of biological activity and the spectrum of antimicrobial action of compositions based on derivatives of thiosulfonates and rhamnolipid biosurfactant on microorganism-phytopathogens *Agrobacterium tumefaciens* and *Clavibacter michiganensis* were conducted. The minimal inhibitory and bactericidic concentrations of developed compositions were determined.

Keywords: Biosurfactant, thiosulfonates, microorganism-phytopathogens, minimal inhibitory, bactericide concentrations.

Вступ. Значною проблемою сільського господарства залишаються грибкові, бактеріальні і вірусні хвороби рослин (бактеріальний рак винограду, мозаїчні хвороби картоплі, сої, пшениці), які спричиняють зниження врожаїв основних сільськогосподарських культур, негативно впливають на якість продуктів харчування для людей та кормів для тварин.

Фітопатогенні ураження сільськогосподарських культур є однією з основних причин економічних втрат у агрономії. Ці економічні збитки зумовлені підвищеним гниттям, зниженням приросту живої біомаси рослин. В наш час значних масштабів набуло використання антибіотиків у сільському господарстві. Застосування цих препаратів допомогло більшості аграріям України і світу у боротьбі з хворобами сільськогосподарських рослин. Але,

крім позитивного результату, значним негативним наслідком широкого застосування антибіотичних речовин є виникнення резистентних форм мікроорганізмів [1]. Крім того синтетичні засоби негативно впливають на екологічний стан довкілля.

Отже, назріла нагальна необхідність створення екологічно безпечних препаратів нового покоління – зручних для застосування, стабільних композицій, які можуть усувати дію фітопатогенних мікроорганізмів і попереджати її, а також зводити до мінімуму процеси, що супроводжують пошкодження рослин. Разом з тим, вони мають бути нешкідливими для людей, тварин і довкілля.

З попередніх досліджень відома біологічна активність й антимікробна дія тіосульфонатів, які подібні за структурою до антибіотика аліцину, активної антимікробної речовини часнику [2]. Проте ці сполуки характеризуються низькою розчинністю у воді, що ускладнює їх використання. Структура поверхні мікробної клітини забезпечує ефективний захисний бар'єр для антимікробних препаратів. Підвищення проникності клітинних мембран різними агентами допомагає подолати бар'єр і збільшити сприйнятливість до антибіотиків. Відомо, що поверхнево-активні речовини впливають на проникність мембран низки мікробних клітин.

Особливі властивості біогенних ПАР (поверхнева, емульгувальна активність, змочування поверхонь, вплив на проникність клітинних мембран) зумовлюють їх перспективи для створення комплексних препаратів з різними біологічно активними речовинами, у тому числі низько слаборозчинними тіосульфонатами [3]. У композиціях з біоПАР можна підвищити ефективність та зменшити робочі концентрації біоцидів, що важливо з економічної й екологічної точки зору.

У попередніх роботах було показано доцільність використання рамноліпідних ПАР у композиціях з тіосульфонатами (МТС та ЕТС) як антимікробних препаратів [4].

Мета роботи. Дослідити антимікробну активність композицій алілтіосульфонату і метилтіосульфонату з рамноліпідним біокомплексом щодо фітопатогенів *Agrobacterium tumefaciens* та *Clavibacter michiganensis,* визначити мінімальні інгібувальні та мінімальні бактерицидні концентрації препаратів.

Матеріали і методи. У роботі використано алілтіосульфонат та метилтіосульфонат – синтетичні аналоги фітонцидів часнику (кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка») [5], і рамноліпідний біокомплекс (РБК) – продукт мікробного синтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, що містить поверхнево-активні рамноліпіди і полісахарид (4:1), отриманий у Відділенні фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України [6].

Культивування мікроорганізмів проводили в колбах Ерленмейєра (750 мл) з робочим об’ємом 150 мл на ротаційній качалці (220 об/хв) за температури 30°С на рідкому поживному середовищі (г/л): $NaNO_3$ – 4,0; $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ – 2,0; KH_2PO_4 – 1,2; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,5; цитрат Na – 5,0; гліцерин – 50 г/л. Термін культивування – 5 діб. РБК виділяли із отриманого супернатанту культуральної рідини шляхом осадження 10%-ним розчином HCl при pH 3, з подальшим витримуванням осаду при 4 °С впродовж 12 год, відділенням щляхом центрифугування (8000 об/хв, 20 хв) та висушуванням під вакуумом до постійної маси.

Для визначення антимікробної активності біоПАР, тіосульфонатів та їх композицій використовували мікроорганізми-фітпатогени *Agrobacterium tumefacians, Clavibacter michiganensis* з Української колекції мікроорганізмів (Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України).

Антимікробну активність оцінювали за мінімальними значеннями інгібувальної (МІК) і бактерицидної (МБК) концентрацій препаратів [7]. Розведені середовища засівали інокулятом тестової культури. Добові культури розводили ізотонічним розчином натрій хлориду до концентрації 1×10^9 КУО/см^3. Мінімальна

концентрація препарату, яка давала повну видиму затримку росту культури відповідала МІК даного препарату щодо тестових штамів, що визначало ступінь їх чутливості.

Для визначення ступеня бактерицидної дії препарату із останніх прозорих пробірок проводили висів на агаризоване середовище. За МБК дослідних препаратів приймали найменшу їх концентрацію у пробірці, висів із якої після інкубації не давав росту на агарі.

Результати й обговорення. Було розроблено композиції рамноліпідних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 з метил- та алілтіосульфонатами, які є синтетичними аналогами біоцидів часнику і цибулі. Антимікробний потенціал тіосульфонатів, біоПАР та створених на їх основі композицій вивчено по відношенню до тестових мікроорганізмів-фітопатогенів *Agrobacterium tumefaciens* (бактеріальний рак винограду і плодових дерев) та *Clavibacter michiganensis* (бактеріальна кільцева гниль овочів). Встановлено, що у композиціях тіосульфонатів з біоПАР суттєво підвищується антимікробна активність. Це можна пояснити впливом біоПАР на проникність клітинних мембран мікроорганізмів, здатністю до солюбілізації малорозчинних у воді речовин [8]. Вивчення антимікробної дії композицій дало змогу встановити мінімальні значення інгібувальних та бактерицидних концентрацій препаратів. Результати представлені в таблиці 1.

Як видно із результатів, наведених в таблиці 1, значення МІК і МБК препаратів до досліджуваних мікроорганізмів були досить різноманітними. Визначено, що МІК для алілтіосульфонату щодо *Clavibacter michiganensis* була 50 мг/мл, а МБК – 150 мг/мл (табл.1) і такі ж значення були отримані для метилтіосульфонату. Для культури *Agrobacterium tumefaciens* МІК для АТС становила 100 мг/мл, а МБК – 150 мг/мл, найменшими були МІК для МТС – 25 мг/мл, та МБК – 50 мг/мл. Експериментальні дані показали, що у композиції з рамноліпідним біокомплексом (1:1) бактерицидні концентрації АТС відносно

Clavibacter michiganensis знижувалися до 25 мг/мл, таке ж значення було отримано для МІК.

Таблиця 1. Антимікробна активність тіосульфонатів окремо і в присутності біоПАР на Agrobacterium tumefaciens та Clavibacter michiganensis

Препарат	*Clavibacter michiganensis*		*Agrobacterium tumefaciens*	
	МІК, *мг/л*	МБК, *мг/л*	МІК, *мг/л*	МБК, *мг/л*
АТС	50	150	100	150
МТС	50	150	25	50
АТС+РБК 1:1	50	50	25	50
МТС+РБК 1:1	50	150	25	50
АТС+РБК 2:1	50	50	50	50
МТС+РБК 2:1	50	100	25	50
АТС+РБК 1:2	25	25	25	50
МТС+РБК 1:2	25	100	25	25

Примітка. МІК–мінімальна інгібувальна концентрація, **МБК**–мінімальна бактерицидна концентрація, **МТС**–метилтіосульфонат, **АТС**–алілтіосульфонат, **РБК–** рамноліпідний біокомплекс.

Достатньо ефективною була ця композиція щодо *Agrobacterium tumefaciens:* МІК – 25 мг/мл, а МБК – 50 мг/мл. Також результати показали, що і для композицій метилтіосульфонату з РБК (1:2) мінімальна бактерицидна концентрація знизилась до 25 мг/мл, а МІК також до 25 мг/мл щодо *Agrobacterium tumefaciens*. Аналогічно бактерицидні концентрації МТС знижувалися до 100 мг/мл, а для МІК відносно *Clavibacter michiganensis* до 25 мг/мл.

Отримані результати свідчать, що додавання у композиції РБК сприяє суттєвому зниженню мінімальних інгібувальних й бактерицидних концентрацій метил- та алілтіосульфонатів – у середньому на 50 %.

Висновки. Розроблені композиції на основі тіосульфонатів та біоПАР володіють бактерицидною дією, проявляють високу антибактеріальну

активність по відношенню до мікроорганізмів-фітопатогенів *Agrobacterium tumefacians* та *Clavibacter michiganensis,* це свідчить про перспективу використання біоПАР для створення високоефективних комплексних агробіопрепаратів для захисту рослин.

Перспективи подальших досліджень. Розробка нових препаратів для сільського господарства на основі біоПАР та тіосульфонатів для захисту рослин.

Список літератури

1. Hojgard S. Antibiotic resistance. Why is the problem so difficult to solve? / S. Hojgard, K. Faruk // Infect. Ecol. Epidemiol. — 2012. — Vol. 7, # 14. —P. 1113—1124.

2. Лубенець В. І. Тіосульфонати: синтез і властивості / Лубенець В.І. // Укр. хім. журн. – 2003. – 273 Т. 69, № 3. – С. 109–117.

3. Pacwa-Płociniczak M., Płaza G. A., Piotrowska-Seget Z., Cameotra S. S. Environmental applications of biosurfactants: recent advances. Int. J. Mol. Sci. 2011, V. 12, P. 633–654.

4. V. Lubenets, O. Karpenko, M. Ponomarenko, G. Zahoriy, A. Krychkovska, V. Novikov. Development of new antimicrobial compositions of thiosulfonate structure / // Chemistry and Chemical Technology. – 2013. – Vol. 7 – P. 119-124.

5. Lubenets V., Vasylyuk S., Baranovych D., Komarovska-Porokhnyavec O., Rayevska K., Zaichenko O., Novikov V. The plant protection remedies of thiosulfonate type. Chem. Agricult. Environ. 2007, V. 8, P. 163–167.

6. Оптимальные методы выделения биогенных поверхностно-активных рамнолипидов / Е. В. Карпенко, Т.Я. Покиньброда, Р.Г. Макитра, Е.Я. Пальчикова // Журнал общей химии. – 2009. – Т. 12 – С. 2011 – 2014.

7. The importance of rhamnolipid-biosurfactant induced changes in bacterial membrane lipids of *Bacillus subtilis* for the antimicrobial activity of thiosulfonates / A. Sotirova, T. Avramova, S. Stoitsova, I. Lazarkevich, V. Lubenets, E. Karpenko, D. Galabova // Current Microbiology. – 2012. – Vol. 65. – P. 534-541.

Sachdev D.P., Cameotra S.S. Biosurfactants in agriculture // Applied Microbiology and Biotechnology – 2013. – 97. C. 1005–1016.

СЕКЦІЯ 3. ПРИРОДООХОРОННІ БІОТЕХНОЛОГІЇ

БІОГАЗ З ТВАРИННИЦЬКИХ КОМПЛЕКСІВ

Олександр Воронцов

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Анотація. Визначено склад біогазу і його вихід при розкладанні органічних забруднюючих речовин стічних вод тваринницьких комплексів.

Оптимальним режимом очищення тваринницьких і близьких до них за складом стоків можна вважати безперервну метанову ферментацію зі швидкістю розбавлення 0,021 год$^{-1}$ в термофільних умовах.

Анаеробне зброджування тваринних відходів не тільки нівелює загрозу біоценозу, але й сприяє отриманню відновленої енергії та знезаражує стоки.

Ключові слова: очищення стічних вод, біогаз, метан, анаеробна (метанова) ферментація, глибина зброджування, стоки тваринницького комплексу.

Вступ. Із зростанням народонаселення та підвищення рівня життя у країнах Азії суттєво зростає споживання м’яса, що в свою чергу сприяє інтенсивному розвитку тваринництва та птахівництва. Технологія вирощування скота, яка прийнята в даний час на тваринницьких комплексах промислового типу, характеризується високою концентрацією поголів'я, безпідстилковим утриманням тварин, повною механізацією процесів видалення гною з виробничих приміщень, що обумовлює утворення якісно нового виду стічних вод [1]. Сучасний стан вимог до охорони навколишнього середовища вимагає нових рішень по знешкодженню таких забруднень.

Впровадження метанової ферментації дозволить вирішити проблему передочистки «важких» стоків, їх знезараження та подальшої утилізації продуктів, що утворюються.

Так, за даними Індійської національної ради з прикладних досліджень, в сільському господарстві Індії щорічно утворюється 1 335 млн. т вологого гною що дає можливість отримати 8,5 × 10^{10} $м^3$ біогазу, а залишковий шлам є органічним добривом, що містить 2,65 млн. т сполук азоту, 1,22 млн. т P_2O_5 і 2 млн. т $К_2О$, а також інші елементи [1].

Матеріали і методи дослідження. Як об'єкт дослідження використовували стічні води тваринницького комплексу «Мурманський». Фізико – хімічні та мікробіологічні аналізи проводилися згідно загальноприйнятим методикам. Проведено обробку результатів досліджень методами математичної статистики.

Результати і обговорення. Свині в основному утримуються в закритих приміщеннях, що спрощує збір екскрементів. Вважають, що при переробці екскрементів від 1 свині в середньому можна отримати 1,22 ГДж енергії на рік, що становить 68,5 % від загального енергетичного потенціалу гною [7].

Залежно від мети ферментації, (очищення стічної рідини, отримання добрив, кормового вітаміну $В_{12}$ або біогазу), та складу стоків необхідні різні режими роботи метантенків. У практиці очищення стічних вод прийнято вважати, що при співвідношенні БСК/ХСК > 0,5 необхідно застосовувати біохімічні методи очищення (1). Вміст азоту і фосфору має задовольняти співвідношенню БСК:N:P = 100:5:1. Для даної категорії стічної води це співвідношення становило: при нижній межі значень 100:37:0,9; при верхній – 100:54:0,45. Слід враховувати, що в процесі розкладання органічних речовин кількість амонійного азоту буде збільшуватися.

Процес очищення стоків проводили в напівбезперервному режимі. Швидкість розбавлення дорівнювала 0,0042 $год^{-1}$; 0,0084$год^{-1}$; 0,0168 $год^{-1}$, тобто доза завантаження становила 10, 20 і 40 % від робочого об'єму метантенка. На 5-7 добу після запуску метантенків процес стабілізувався, при цьому вміст летючих жирних кислот становив 0,40 ± 0,01 – 0,60 ± 0,05 г / л.

Таблиця № 1. Фізико-хімічний склад стічних вод свинокомплексу.

№	Показники	Значення
1	pH	6,8 ± 0,1 – 7,5 ± 0,2
2	ХПК , г O_2/ л	6,0 ± 0,5 – 12,0 ± 0,17
3	БПК , г O_2/ л	2,8 ± 0,2–6,7 ± 0,1
4	Летючі жирні кислоти , г/ л	0,24 ± 0,09 – 1,40 ± 0,11
5	Молочна кислота , г/ л	0,067 ± 0,007 – 0,100 ± 0,002
6	Карбонати , г/ л	4,0 ± 0,5 – 8,0 ± 0,7
7	Нітрати , г/л	0,010 ± 0,001 – 0,055 ± 0,002
8	Нітрити , г/л	0,009 ± 0,001 – 0,012 ± 0,001
9	Хлориди , г/л	0,045 ± 0,002 – 2,700 ± 0,017
10	Фосфати , г /л	0,015 ± 0,003 – 0,065 ± 0,010
11	Амонійний азот , г/л	0,20 ± 0,02 – 0,40 ± 0,03
12	Сечовина , г /л	1,0 ± 0,3 – 3,0 ± 0,2
13	Сульфати , г/л	0,26 ± 0,01 – 0,30 ± 0,01
14	Загальна лужність , г екв./л	0,02 ± 0,01 – 0,05 ± 0,01
15	Жорсткість , г екв./л	0,020 ± 0,009 – 0,130 ± 0,014
164	Зважені речовини , г /л	1,5 ± 0,5 – 5,0 ± 1,0
17	Сухий залишок , г /л	1,2 ± 0,1 – 1,5 ± 0,2
18	Зольність , %	0,4 ± 0,1 – 0,25 ± 0,01
19	Загальний азот , %	0,15 ± 0,02 – 0,25 ± 0,01

Контроль за ходом процесу здійснювали за кількістю біогазу, ХСК, $БСК_5$, pH та концентрації легких жирних кислот.

При початковому значенні pH 7,5±0,2 біогаз виділяється протягом усього періоду бродіння. Оптимум pH для мезофільних умов ферментації становить 7,8±0,1, а для термофільних – 7,6±0,1.

Результати досліджень процесу метанового бродіння тотожних стоків в мезофільних і термофільних умовах при різних швидкостях розбавлення наведені в табл. 2-7.

Таблиця № 2. Показники процесу метанового бродіння в мезофільних умовах при швидкості розведення 0,0042 год$^{-1}$ / M ± m

Тривалість, діб.	Газ, л / доба	ХСК, г /л	$БСК_5$, г /л	Зброджування, Е, %	
				по ХСК	по $БСК_5$
0	-	6,0 ± 0,5	2,80 ± 0,20	-	-
1	0,6	4,0 ± 0,4	1,80 ± 0,21	33 ± 4	35 ± 9
2	1,7	2,0 ± 0,1	1,20 ± 0,09	88 ± 2	57 ± 2
3	1,9	1,7 ± 0,1	1,10 ± 0,05	72 ± 1	63 ± 1
4	2,1	1,6 ± 0,1	1,00 ± 0,02	73 ± 1	64 ± 1
5	2,3	1,5 ± 0,1	0,92 ± 0,01	75 ± 1	67 ± 1
6	2,3	1,4 ± 0,1	0,80 ± 0,03	77 ± 1	71 ± 1
7	2,5	1,0 ± 0,2	0,80 ± 0,02	83 ± 3	71 ± 2
8	2,5	1,0 ± 0,1	0,67 ± 0,06	83 ± 2	76 ± 2
9	2,5	1,0 ± 0,1	0,67 ± 0,04	83 ± 4	76 ± 4
10	2,5	1,0 ± 0,2	0,67 ± 0,03	83 ± 3	76 ± 2

Таблиця № 3. Показники процесу метанового бродіння в мезофільних умовах при швидкості розведення 0,0084 год$^{-1}$ / M ± m

Тривалість, діб.	Газ, л / доба	ХСК, г /л	$БСК_5$, г /л	Зброджування, Е, %	
				по ХСК	по $БСК_5$
0	-	8,0 ± 0,5	4,2 ± 0,1	-	-
1	0,5	6,3 ± 0,2	3,8 ± 0,1	23 ± 1	12 ±1
2	1,0	6,0 ± 0,3	3,6 ± 0,2	25 ± 1	14 ± 1
3	1,8	4,2 ± 0,2	2,8 ± 0,1	48 ± 1	33 ± 2
4	2,4	4,0 ± 0,1	2,6 ± 0,1	50 ± 2	38 ± 1
5	3,0	2,5 ± 0,3	1,8 ± 0,3	69 ± 2	57 ± 5
6	3,0	2,0 ± 0,1	1,2 ± 0,1	75 ± 1	71 ± 2
7	3,1	2,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	75 ± 2	74 ± 1
8	3,1	7,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2	78 ± 2	76 ± 2
9	3,2	1,5 ± 0,1	1,0 ± 0,2	81 ± 1	76 ± 1
10	3,2	1,5 ± 0,2	1,0 ± 0,1	81 ± 3	76 ± 1

Таблиця № 4. Показники процесу метанового бродіння в мезофільних умовах при швидкості розведення 0,0168 год$^{-1}$ / M ± m

Тривалість, діб.	Газ, л / доба	ХСК, г /л	БСК$_5$, г /л	Зброджування, Е, %	
				по ХСК	по БСК$_5$
0	-	7,2 ± 0,1	4,00 ± 0,30	-	-
1	2,5	6,5 ± 0,2	3,30 ± 0,10	12 ± 4	17±1
2	2,7	5,2 ± 0,4	3,10 ± 0,07	28 ± 5	22±1
3	2,7	3,2 ± 0,3	1,85 ± 0,07	56 ± 1	54 ± 1
4	3,4	3,0 ± 0,2	1,70 ± 0,02	58 ± 1	57 ± 1
5	3,7	2,1 ± 0,1	1,20 ± 0,01	71 ± 1	70 ± 2
6	4,8	1,8 ± 0,1	0,97 ± 0,04	75 ± 1	76 ± 1
7	4,8	1,2 ± 0,02	0,94 ± 0,02	83 ± 2	76 ± 2
8	4,9	1,2 ± 0,1	0,85 ± 0,01	83 ± 3	76 ± 1
9	5,0	1,2 ± 0,2	0,85 ± 0,02	83 ± 2	76 ± 3
10	5,2	1,2 ± 0,1	0,85 ± 0,02	83 ± 1	76 ± 1

Таблиця № 5. Показники процесу метанового бродіння в термофільних умовах при швидкості розведення 0,0042 год$^{-1}$ / M ± m

Тривалість, діб.	Газ, л / доба	ХСК, г /л	БСК$_5$, г /л	Зброджування, Е, %	
				по ХСК	по БСК$_5$
0	-	6,0 ± 0,5	2,80 ± 0,20	-	-
1	0,6	4,80 ± 0,11	2,00 ± 0,17	20 ±4	28 ±3
2	2,0	2,00 ± 0,20	1,20 ± 0,13	66 ± 3	57 ± 2
3	2,2	1,38 ± 0,30	0,98 ± 0,01	75 ± 2	66 ± 1
4	2,4	1,30 ± 0,10	0,95 ± 0,02	78 ± 1	68 ± 1
5	2,8	1,15 ± 0,07	0,82 ± 0,03	81 ± 1	71 ± 1
6	3,6	1,00 ± 0,08	0,80 ± 0,02	83 ± 1	74 ± 1
7	4,1	0,95 ± 0,01	0,74 ± 0,02	84 ± 1	77 ± 2
8	4,1	0,90 ± 0,01	0,74 ± 0,01	85 ± 2	77 ± 1
9	4,6	0,80 ± 0,03	0,60 ± 0,03	87 ± 3	78 ± 3
10	4,6	0,80 ± 0,02	0,60 ± 0,02	87 ± 1	78 ± 2

Таблиця № 6. Показники процесу метанового бродіння в термофільних умовах при швидкості розведення 0,0084 год$^{-1}$ / M ± m

Тривалість, діб.	Газ, л / доба	ХСК, г /л	$БСК_5$, г /л	Зброджування, Е, %	
				по ХСК	по $БСК_5$
0	-	8,0 ± 1,4	4,20 ± 0,77	-	-
1	1,8	4,1 ± 0,4	2,80 ± 0,21	49 ± 2	33 ± 3
2	2,0	3,4 ± 0,1	1,70 ± 0,06	57 ± 2	59 ± 4
3	2,5	2,8 ± 0,2	1,10 ± 0,04	65 ± 1	74 ± 1
4	2,5	2,5 ± 0,1	0,98 ± 0,01	69 ± 1	76 ± 1
5	3,0	2,1 ± 0,1	0,97 ± 0,01	74 ± 1	77 ± 1
6	4,5	1,8 ± 0,1	0,92 ± 0,02	77 ± 2	78 ± 1
7	4,6	1,1 ± 0,3	0,70 ± 0,05	86 ± 3	83 ±2
8	4,6	1,1 ± 0,2	0,70 ± 0,03	86 ± 2	83 ± 3
9	4,9	1,0 ± 0,1	0,60 ± 0,02	87 ± 1	86 ± 2
10	4,9	1,0 ± 0,2 0,	60 ± 0,01	87 ± 2	86 ± 1

Таблиця №. 7. Показники процесу метанового бродіння в термофільних умовах при швидкості розведення 0,0168 год$^{-1}$ / M ± m

Тривалість, діб.	Газ, л / доба	ХСК, г /л	$БСК_5$, г /л	Зброджування, Е, %	
				по ХСК	по $БСК_5$
0	-	7,20 ± 1,10	4,00 ± 0,03	-	-
1	2,4	3,50 ± 0,34	1,90 ± 0,21	51 ± 2	52 ± 3
2	3,5	2,70 ± 0,11	1,10 ± 0,04	65 ± 3	72 ± 1
3	3,7	2,7± 0,04	0,94 ± 0,01	76 ± 1	75 ± 1
4	4,0	1,60 ± 0,01	0,90 ± 0,02	77 ± 1	77 ± 1
5	4,7	1,30 ± 0,01	0,83 ± 0,02	82 ± 1	78 ± 1
6	4,9	1,00 ± 0,01	0,81 ± 0,01	86 ± 1	79 ± 1
7	5,0	0,92 ± 0,02	0,75 ± 0,02	87 ± 2	81 ± 1
8	5,0	0,92 ± 0,01	0,70 ± 0,01	87 ± 1	82 ± 2
9	5,0	0,80 ± 0,02	0,70 ± 0,01	88 ± 2	82 ± 1
10	5,0	0,80 ± 0,03	0,70 ± 0,02	88 ± 3	82 ± 1

Отримані дані свідчать про те, що глибина зброджування субстрату залежить від швидкості розведення і температурних умов. У мезофільних умовах глибина зброджування по ХСК становить 81-83 %, по $БСК_5$ - 76 %, в термофільних умовах глибина зброджування збільшується до 87-88 % за ХСК та до 86 % по $БСК_5$.

При обробці тваринницьких стоків у метантенках відбуваються значні зміни бактеріологічних показників. Так в мезофільних умовах колі - титр знижується до 10^3, а в термофільних умовах ріст кишкової палички на середовищі Ендо не спостерігалося, що підтверджує більший знезаражуючий ефект термофільного метанового бродіння.

Таблиця № 8. Мікрофлора стічних вод тваринницького комплексу при метановій ферментації

Показники	Вхідна вода	Очищена вода, режими	
		мезофільний	термофільний
КУО в 1 мл	20×10^6–50×10^8	8×10^6	2×10^5
Колі титр	10^7 – 10^{-9}	10^4 - 10^3	–

Висновки. Таким чином, інтенсивний розвиток промислового товарного тваринництва стає реальною екологічною загрозою внаслідок суттєвого збільшення концентрованих органічних відходів в довкіллі.

Анаеробне зброджування тваринних відходів не тільки нівелює цю загрозу, але й сприяє отриманню відновленої енергії та знезаражує стоки.

Отже , оптимальним режимом переробки тваринницьких і близьких до них за складом стоків можна вважати безперервну метанову ферментацію зі швидкістю розбавлення 0,021 год$^{-}$1 в термофільних умовах.

Список літератури

1. *Баадер В., Доне Е., Бренндофер М*. Биогаз: теория и практика. Пер. с нем. М.И. Серебряного. – М: 1982. -148с.
2. *Бабич О.С., Кухаренко П.М., Улексін В.О*. Біогаз як місцевий енергоресурс для сільськогосподарських підприємств: Матеріали науково-технічної конференції. Дніпропетровськ. – 2010. – С. 88-90.
3. *Бондаренко Б.І., Жовтянський В.А*. Проблема утилізації твердих побутових відходів та знешкодження небезпечних відходів в Україні / Энерготехнологии и ресурсосбережение. — 2008. — № 4. — С. 63-69.
4. *Войтович І.Г*. Анаеробне перероблення курячого посліду в біогаз / Науковий вісник. – 2008. - вип. 13.2. – С. 116-119.
5. *Дубровський В.С. , Віестур У.Е.* , Метанове бродіння сільськогосподарських відходів. - Рига. : Зінатне , 1988 . – 204
6. *Пятничко А.И., Баннов В.Е.* Утилизация биогаза закрытых полигонов ТБО / Экология плюс. — 2009. — № 4. — С. 12-14.
7. *Braun R.Anacrobig* pretreatmenm of industrial wastewater II Eur . Congr.Diotechnol . - Munchen 10-14 sept.weiheim.a . - 1984 . - Vol.3 . - p. 104-114
8. *Haga K., Tanaka K., Higaki S*. Methane production from animal wastes and its prospects in Japan // Agr. Wastes. /1979. -vol 1, N1. –p.45-55.
9. *Jain M.K., Mishra M.M*. Biogas plant: An alternative technology for energy and manure //Food Farming Agr. -1978. –vol8, N 10. –p.292-296.
10. *Jeck R.* Methane from biomass //Environment, - 1979. –vol.21, N1 - p.28-29
11. Update of national and state programs presently underway to curb point and nonpoint sources of water pollution from animal product on facilities //animal sci. -1979 –vol. -48, N1-p.223-227.
12. Utility companies open experimental manure-to methane conversation plant // Dairyman. - 1978. Vol.58, N 12. – p.34.

СИНТЕЗ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405 ТА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMB Ac-5017 НА ВІДПРАЦЬОВАНІЙ СОНЯШНИКОВІЙ ОЛІЇ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ У ПРИРОДООХОРОННИХ ТЕХНОЛОГІЯХ

Арем Герштман, Назар Костейков

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The possibility of increasing to 4% concentration waste sunflower oil in cultivation medium of surfactants producers *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 and *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 were established. The indicators of surfactants synthesis depended on the type as well as concentration of waste oil. Maximal surfactant amounts (2,5–3,6 g/l) were achieved under cultivation of both strains on oil after frying potatoes «Po-selyanski». It was established that the degree of oil destruction in water (3−6 g/l) after 30 day in the presence of surfactant synthesized on waste sunflower oil was 70–80%.

Keywords: waste sunflower oil, microbial surfactants, oil destruction, *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017.

Вступ. З кожним роком на світовому ринку зростає потреба у синтетичних поверхнево-активних речовинах через їх широке застосування в різних сферах промисловості, медицині та сільському господарстві. Однак їх суттєвими недоліками є токсичність та стійкість до біологічної деградації. Альтернативою синтетичним ПАР можуть стати мікробні поверхнево-активні речовини, позбавлені таких недоліків.

Незважаючи на всі переваги мікробних ПАР, їх промислове виробництво обмежене високими затратами на біосинтез та виділення. Одним з шляхів здешевлення таких технологій є використання відпрацьованих (пересмажених) олій як субстратів для їх одержання. Це дасть змогу не тільки знизити

собівартість кінцевого продукту, а й утилізувати токсичні відходи, викиди яких на території України не регламентуються.

Раніше [1] було показано можливість використання пересмаженої олії для синтезу поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 та *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, проте концентрація олії у середовищі культивування продуцентів не перевищувала 2 %.

Мета дослідження – дослідити можливість синтезу ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 та *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на середовищі з підвищеною концентрацією пересмаженої соняшникової олії та їх використання для деструкції нафти у воді.

Матеріали і методи дослідження. Об'єкти дослідження – штами *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *N. vaccinii* IMB B-7405, зареєстровані в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної академії наук України.

Штам *R. erythropolis* IMB Ac-5017 культивували у рідкому поживному середовищі (г/л): $NaNO_3$ − 1,3; NaCl − 1,0; $MgSO_4 \times 7H_2O$ − 0,1; Na_2HPO_4 −0,6; KH_2PO_4 − 0,14; $FeSO_4 \times 7H_2O$ − 0,01 (базове середовище). В одному з варіантів концентрацію $NaNO_3$ підвищували до 2,0–2,6 г/л.

N. vaccinii IMB B-7405 культивували у рідкому поживному середовищі такого складу (г/л): $NaNO_3$ − 0,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ − 0,1; $CaCl_2 \times 2H_2O$ − 0,1; KH_2PO_4 − 0,1; $FeSO_4 \times 7H_2O$ − 0,01 (базове середовище). Додатково в середовище вносили дріжджовий автолізат (0,5 %, об'ємна частка). Концентрацію $NaNO_3$, в одному з варіантів підвищували до 0,75–1,25 г/л.

Як джерело вуглецю використовували відпрацьовану після смаження м'яса, картоплі «Фрі» та картоплі «По-селянськи» олію (мережа ресторанів Mcdonald's, Київ) в концентрації 2–5 % (об'ємна частка).

Посівний матеріал вирощували в рідкому середовищі з 0,5 % (об'ємна частка) відповідної відпрацьованої олії. Кількість посівного матеріалу

становила 5 та 10% від об'єму поживного середовища для *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *N. vaccinii* IMB B-7405 відповідно. Культивування здійснювали в колбах об'ємом 750 мл з 100 мл середовища на качалках (320 об/хв) при 28−30 °С протягом 120 год.

Кількість синтезованих позаклітинних ПАР (г/л) визначали ваговим методом після трикратної екстракції із супернатанту культуральної рідини. Для одержання супернатанту культуральну рідину центрифугували при 5000 g впродовж 20 хв. Залишки соняшникової олії видаляли шляхом її трикратної екстракції петролейним ефіром (співвідношення 1:1). ПАР екстрагували модифікованою сумішшю Фолча (хлороформ, метанол – 2:1; з додаванням 1М HCl) [4].

Для моделювання забрудненої нафтою води у пластикову ємність вносили 2 л бюветної води, на поверхню якої наносили нафту у концентрації 3 і 6 г/л, після чого додавали препарати ПАР у вигляді культуральної рідини (10 %, об'ємна частка). Як джерело біогенних елементів використовували діамонійфосфат (0,01%). Концентрацію нафти визначали ваговим методом після трикратної екстракції гексаном (співвідношення 1:1).

Результати і обговорення. На першому етапі досліджували вплив різної концентрації рафінованої та відпрацьованої олії на синтез ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *N. vaccinii* IMB B-7405 (табл. 1).

Експерименти показали, що за умов росту штаму *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на середовищі з 3–4 % рафінованої олії концентрація ПАР була вищою, ніж на середовищі з 2 % субстрату, проте збільшення концентрації рафінованої олії до 5 % супроводжувалося зниженням показників синтезу ПАР. У той же час при підвищенні концентрації рафінованої олії у середовищі культивування *N. vaccinii* IMB B-7405 спостерігали деяке зниження концентрації синтезованих ПАР. В наступних експериментах рафіновану олію у середовищі культивування обох штамів замінювали на різні типи відпрацьованої (див. табл. 1).

Таблиця 1. Синтез поверхнево-активних речовин за умов росту R. erythropolis IMB Ac-5017 та N. vaccinii IMB B-7405 на середовищі з різною концентрацією відпрацьованої олії

Олія	Концентрація олії, %	ПАР, г/л	
		IMB AC-5017	IMB B-7405
Рафінована	2	1,4±0,07	1,6±0,08
	3	2,5±0,13	1,4±0,07
	4	2,9±0,15	1,2±0,06
	5	0,8±0,04	Н.в.
Відпрацьована після смаження м'яса	2	Н.в.	1,6±0,08
	3	3,2±0,16	1,4±0,07
	4	2,7±0,13	0,9±0,05
Відпрацьована після смаження картоплі «Фрі»	2	Н.в.	2,5±0,13
	3	2,3±0,12	2,3±0,12
	4	1,5±0,08	1,6±0,08
Відпрацьована після смаження картоплі «По-селянськи»	2	Н.в.	Н.в.
	3	2,9±0,15	3,5±0,18
	4	3,6±0,18	2,5±0,13

Примітка. *«Н.в» – не визначали. Культивування штамів R. erythropolis IMB AC-5017 та N. vaccinii IMB B-7405 проводили на базовому середовищі.*

Дані, наведені в табл. 1, показують, що концентрація синтезованих ПАР залежала від типу і концентрації відпрацьованої олії. Найвищі показники синтезу ПАР як штамом IMB Ac-5017, так і IMB B-7405 (концентрація ПАР 2,5–3,6 г/л) досягались за використання відпрацьованої після смаження картоплі «По-селянськи» олії. Зазначимо, що концентрація ПАР за умов росту обох штамів на відпрацьованій після смаження картоплі «Фрі» олії була нижчою, ніж на олії після смаження картоплі «По-селянськи».

З літератури [6] відомо, що «якість» відпрацьованої олії залежить від типу приготовленої страви, кратності, тривалості і температури смаження. На

нашу думку, різний спосіб приготування картоплі «Фрі» та «По-селянськи» може впливати на склад олії, що, в свою чергу, може бути одним з факторів, що спричиняє різний рівень синтезу ПАР на цих субстратах.

Дані, наведені в табл. 1, засвідчують, що підвищення вмісту відпрацьованої олії у середовищі до 4 % супроводжувалось зниженням концентрації синтезованих обома штамами ПАР (за винятком показників синтезу ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на відпрацьованій після смаження картоплі «По-селянськи» олії).

Зазначимо, що ПАР мікробного походження є вторинними метаболітами, синтез яких залежить від співвідношення C/N у середовищі культивування продуцента [3].

У зв’язку з цим на наступному етапі досліджень одночасно з підвищенням концентрації відпрацьованої олії збільшували концентрацію азоту у середовищі культивування.

Експерименти показали, що підвищення концентрації азоту з 1,3 до 2,6 г/л в середовищі культивування штаму *R. erythropolis* IMB Ac-5017 з різними типами відпрацьованої олії не супроводжувалося очікуваним збільшенням концентрації синтезованих ПАР. Деяке підвищення показників синтезу було відмічено у разі культивування штаму на середовищі з відпрацьованою після смаження картоплі «Фрі» олією, в якому вміст джерела азоту збільшили до 2,0 г/л.

Аналогічні результати були встановлені і для штаму *N. vaccinii* IMB B-7405. Збільшення концентрації джерела азоту з 0,5 до 1,25 г/л в середовищі культивування з 4 % відпрацьованої олії практично не супроводжувалось підвищенням показників синтезу ПАР.

Зазначимо, що в літературі є багато повідомлень про використання олієвмісних субстратів та відпрацьованих олії для синтезу поверхнево-активних речовин, однак відсутні дані про використання відпрацьованих олій для синтезу ПАР бактеріями роду *Nocardia*, а відомості щодо синтезу ПАР родококами є

обмеженими. Найбільш відомими та високопродуктивними продуцентами мікробних ПАР як за використанням традиційних субстратів, так і відходів, є представники роду *Pseudomonas*, які синтезують рамноліпіди [5].

В результаті проведених досліджень було встановлено, що показники синтезу ПАР штамів IMB Ac-5017 та IMB B-7405 є порівняними з описаними в літературі [5]. Так наприклад, штами *Pseudomonas* ST12.14/522 та *Pseudomonas* ST12.14/519 на середовищі з пересмаженою соняшниковою олією (5 % за об'ємом) синтезують рамноліпіди у концентрації 3,2 та 3,5 г/л відповідно.

Оскільки властивості мікробних ПАР залежать від типу використаного для їх синтезу джерела вуглецю, на наступному етапі досліджень встановлювали можливість використання ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *N. vaccinii* IMB B-7405, синтезованих на відпрацьованій олії, для біодеградації нафтових забруднень.

У попередніх дослідженнях [2] було показано, що при використанні ПАР, синтезованих на традиційних субстратах (очищений гліцерин, етанол) деструкція нафти у воді становила 85–95 %.

Експерименти показали, що ступінь деструкції нафти у воді (3–6 г/л) на 30 добу під впливом ПАР обох штамів, синтезованих на відпрацьованій після смаження картоплі олії, був дещо нижчим (70−80 %), ніж за використання традиційних субстратів (85–95 %). Проте нижча собівартість кінцевого продукту зумовлює вищу ефективність використання таких ПАР у природоохоронних технологіях.

Висновки. Отже в результаті проведеної роботи встановлено, що підвищення до 4% відпрацьованої після смаження картоплі «По-селянськи» олії в середовищі культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 і *N. vaccinii* IMB B-7405 дало змогу підвищити у два рази концентрацію синтезованих ПАР порівняно з показниками на середовищі, що містить 2 % відпрацьованої олії. ПАР, синтезовані на відпрацьованій соняшниковій олії, можуть бути з високою ефективністю використані для деструкції

нафти у воді. Утилізація токсичної відпрацьованої олії викиди якої в Україні не регламентуються біоконверсією в мікробні ПАР, а також використання таких ПАР для деструкції нафти забезпечує подвійний ефект очищення довкілля.

Список літератури

1. *Пирог Т.П., Софілканич А.П., Конон А.Д., Гриценко Н.А.* Біосинтез поверхнево-активних речовин на промислових відходах // Biotechnologia Acta. – 2014. – Т. 7, № 5. – С. 9–26.

2. *Пирог Т.П., Софилканич А.П., Гриценко Н.А*. Деструкція нефтяных загрязнений в присутствии поверхностно-активныхв еществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodoccocus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Biotechnology. Theory and Practice. – 2015 – № 2. – P. 42–50. doi: 10.11134/btp.2.2015.

3. *Пирог Т.П., Іутинськи І.О., Софілканич А.П., Конон А.Д.* Мікробні поверхнево-активні речовини у природоохоронних технологіях. – К.: Наук. думка, 2016. – 278 с.

4. *Тарасенко Д.О.* Модифікація методу кількісного визначення поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 / Д. О. Тарасенко // Харчова промисловість. – К. : НУХТ, 2008. – № 7. – С. 40–42.

5. *Ben Belgacem Z., Bijttebier S., Verreth C., Voorspoels S., Van de Voorde I., Aerts G., Willems K.A., Jacquemyn H., Ruyters S., Lievens B.* Biosurfactant production by *Pseudomonas* strains isolated from floral nectar // J. Appl. Microbiol. – 2015. – Vol. 118, № 6. – p. 1370-1384. – doi: 10.1111/jam.12799

6. *Choe E.L., Min D.B.* Chemistry of deep-fat frying oils // J Food Sci. – 2007. – 72, N 5. – P. 77–86.

БІОТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ БІОПАЛИВА З ОРГАНІЧНИХ ВІДХОДІВ ШКІРЯНОГО ВИРОБНИЦТВА

Наталія Голуб, Мальвіна Шинкарчук

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут ім. І. Сікорського», м. Київ, Україна

Олександр Козловець

ТОВ «Енвітек», м. Київ, Україна

Анотація. В роботі наведено аналіз відомих біотехнологій переробки відходів шкіряного виробництва та досліджено можливості отримання біогазу з таких відходів. Показано, що відходи підприємств з виробництва шкіри можуть слугувати сировиною для отримання біогазу з високим вмістом метану при раціональному співвідношенні C:N (20:1).

Ключові слова: біогаз, відходи шкіряного виробництва, жировмісні відходи, інокулят, анаеробний ферментативний процес.

Вступ. Згідно правового регулювання енергозбереження в Європейському Союзі та в Україні [1] проблему нестачі енергетичної природної сировини можна вирішити за рахунок альтернативних технологій, спрямованих на переробку органічних відходів виробництва. Впровадження нових ефективних технологій призводить не тільки до забезпечення екологічної безпеки промислового виробництва в плані утилізації органічних відходів підприємництва, а також до зниження енергетичних витрат при одночасному одержанні альтернативних джерел енергії. Особливо гостро постає питання для підприємств, які мають високий вихід органічних відходів. Таким є промислове виробництво натуральної шкіри.

Виробництво шкіри складає на сьогодні близько 1,8 млн. квадратних футів в рік [2]. Загальні річні обсяги виробництва шкіри в Україні в період з 2009 по 2015 рр. коливаються в межах 2,5 – 4 тис. $м^2$ [3].

Утилізація відходів органічного походження (мездра, вовна, кров, жири), які містять у великій кількості неорганічні солі та поверхнево активні речовини, залишається проблемним питанням цієї галузі. Адже відходи при складуванні на відкритих полігонах в процесі гниття відходи виділяють різкий сморід, і можуть потрапити у підземні води. Тому актуальним є визначення раціонального методу переробки відходів шкіряного виробництва з одночасним одержанням з них біопалива.

Мета роботи. Проаналізувати відомі біотехнології переробки відходів шкіряного виробництва та дослідити можливості отримання з них біогазу.

Матеріали і методи дослідження. Модельним джерелом сировини для ферментації обрано жирові відходи з різних стадій виробництва шкірзаводу «Чинбар», м. Київ (табл. 1), які різняться вмістом додаткових солей та поверхнево активних речовин.

Таблиця 1. Вміст сухої органічної речовини (СОР) та зольність відходів виробництва шкіри

Зразок	Вміст сухих речовин, %	Зольність, %	СОР, %
Продукт оброблених шкір свиней	21,42	20,6	17
Чистий свинячий жир	98,1	0,13	97,97
Продукт оброблених шкір ВРХ	13,98	24,49	10,56
Продукт необроблених шкір свиней	38,09	8,13	34,99

Зброджування жировмісних відходів проводили у мезофільному режимі при температурі 38 ± 2 ^{0}С, без перемішування, концентрація СОР – 5 %. Сировина була іммобілізована на поверхні волокнистого інертного носія. Інокулят – з дослідної установки переробки посліду птахів кафедри екобіотехнології та біоенергетики НТУУ «КПІ», об’єм ферментера – 0,5 дм^3, ступінь заповнення 70%. Біогаз збирали у градуюваний газгольдер мокрого типу.

Склад біогазу визначали за стандартною методикою за використання газового хроматографа ЛХМ–8–Д (виробництво СРСР). Визначення сухої речовини, зольності та знезоленого залишку визначали за стандартними методиками [4]. Розрахунки проводили у середовищі Microsoft Excel 2010.

Результати і обговорення. У процесі виробництва шкіри головним джерелом органічних відходів є жир збагачений солями, поверхнево активними речовинами (ПАР) та содою, який утворюється на різних стадіях обробки шкіри. В Україні та світі існують різні способи переробки таких відходів. Найпростішим способом є компостування органічних відходів тваринницьких комплексів [5]. Але одразу постає проблема з площами під компостування, оскільки для здійснення завершеної деструкції відходів необхідно декілька років. При меншому терміні зберігання не відбувається розкладу вовни, ПАР, що призводить до утворення компосту низької якості.

Пряме спалювання відходів або їх газифікація з виробництвом золи та рідкого пального [5] – ще один спосіб переробки, який застосовують в Україні. Однак це призводить до знищення цінної для землеробства органічної складової та забруднення навколишнього середовища парниковими газами.

Вітчизняне виробництво шкіри використовує прискорену біологічну коферментацію відходів [6] з використанням целюлозовмісної сировини, отримуючи добрива із збалансованим вмістом тривалентного хрому. При цьому використовується тільки мездра та осади стічних вод підприємства. Також недоліком цього процесу є складність досягнення обмеженого вмісту важких металів.

В Ефіопії із жиру виготовляють сполуки для дублення шкіри [7]. Однак при використанні такої технології задіяні не всі відходи виробництва. В Португалії із жировмісних відходів виробництва шкіряної промисловості отримують біодизель [8]. В Індії [9] використовується коферментація відходів виробництва шкіри для отримання біогазу. Однак не досягнуто сталого виходу біогазу.

Виходячи з вищенаведених даних, найбільш енергетично привабливим є технологія отримання біогазу, оскільки за її відпрацювання та впровадження в залежності від умов проведення процесу можливо вирішити два питання – утилізації усіх відходів виробництва, отримання енергоносія та високоякісного добрива.

На теперішній час існують різні способи виробництва шкіри і, відповідно, від технологічних умов процесу та речовин, що в них використовуються, умови проведення ферментації будуть відрізнятись.

На рис.1 наведено вихід біогазу в процесі ферментації відходів, одержаних з різних стадій виробництва. У перші 4 доби відбувається деструкція сировини без виробництва метану. У цей період виділяється тільки CO_2. Починаючи з 5 доби вміст метану у біогазі 50% і досягає максимуму 70% на 8 добу ферментації для зразків 4, 5 та 7.

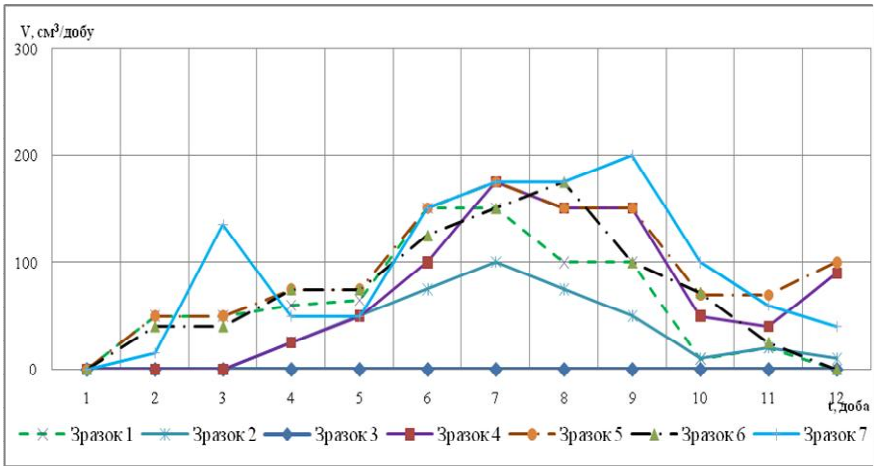


Рис 1. Добовий вихід біогазу (V) в процесі ферментації (t) в залежності від сировини з різних стадій виробництва шкіри. 1 – продукт оброблених шкір свиней, 2 – свинячий жир, 3 – продукт оброблених шкір ВРХ, 4 – продукт необроблених шкір свиней, 5 – еквімолярна за масою суміш відходів 4 зразків, 6 – продукт оброблених шкір свиней + послід, 7 – еквімолярна за масою суміш відходів 4 зразків + послід.

Найкраще зброджувалися відходи в суміші з курячим послідом (зразки 6 і 7), які показують більший вихід, порівняно зі зразками без посліду. Найвищий вихід біогазу за 12 діб ферментації серед відходів без додавання курячого посліду одержано при зброджуванні суміші відходів у рівному співвідношенні (зразок 5) (рис.2). При зброджуванні зразків відходів 1-4 найкращий вихід показав продукт необроблених шкір свиней (зразок 4), для якого не використовуються солі та ПАР на стадії виробництва.

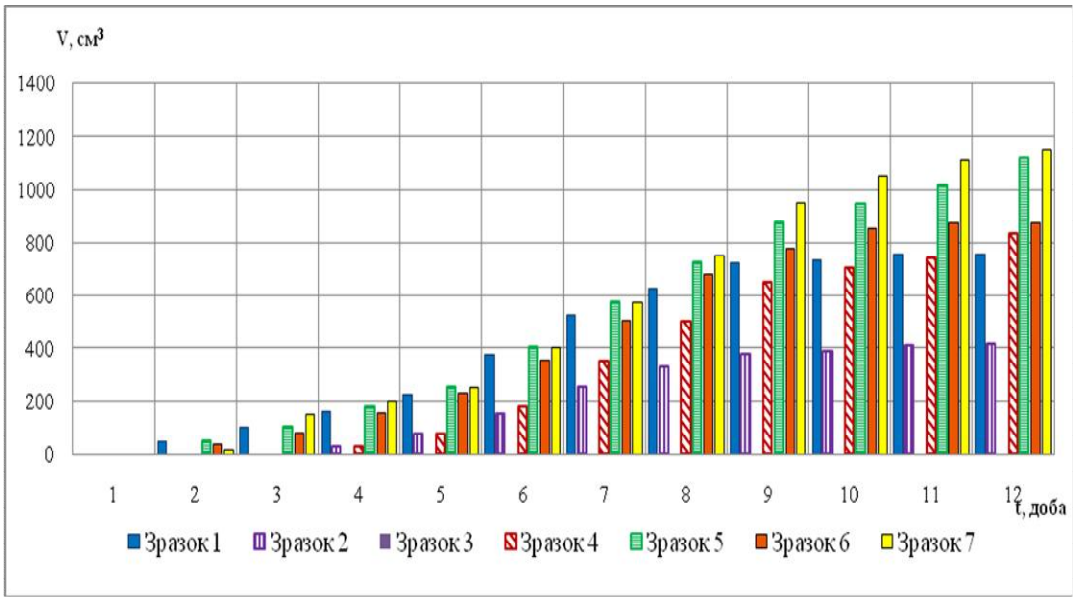


Рис 2. Загальний вихід біогазу (V) в процесі ферментації (t) в залежності від сировини з різних стадій виробництва шкіри. 1 – продукт оброблених шкір свиней, 2 – свинячий жир, 3 – продукт оброблених шкір ВРХ, 4 – продукт необроблених шкір свиней, 5 – еквімолярна за масою суміш відходів 4 зразків, 6 – продукт оброблених шкір свиней + послід, 7 – еквімолярна за масою суміш відходів 4 зразків + послід.

Відходи обробки шкіри великої рогатої худоби (ВРХ) (зразок 3) за таких умов не піддаються деструкції мікроорганізмами. Це можна пояснити великою концентрацією солей, яка призводить до зупинки життєдіяльності мікроорганізмів у асоціації. Також незначний вихід біогазу характерний для

відходів з стадії обробки шкіри свиней, що також можна пояснити наявністю солей.

У випадку використання чистого жиру відбувається швидке закиснення середовища за рахунок у творення низькомолекулярних кислот. При цьому змінюється метаболізм мікроорганізмів з продукування оцтової кислоти в бік утворення масляної кислоти, що призводить до зниження утворення метану.

Процес продукування біогазу з жиру обмежується відсутністю необхідної концентрації як неорганічних солей так і нітрогенвмісних сполук. Адже для розвитку мікроорганізмів деструкторів високомолекулярних речовин та метаногенів співвідношення C:N повинно бути не менше 20:1, а ця умова не виконується в даному випадку.

Таким чином, можна стверджувати, що жировмісні відходи підприємств з виробництва шкіри можуть слугувати сировиною для отримання біогазу з високим вмістом метану. Однак для можливості впровадження технології у виробництво необхідно визначити раціональне співвідношення відходів та джерела нітрогену, яким може слугувати послід птахів.

Список літератури

1. *В. Г. Дідика* Правове регулювання енергозбереження в Європейському Союзі та в Україні // За заг. ред. к.е.н. В. Г. Дідика, - К. – 2007. – 165 с.

2. *P. Shanmugam*, *N. J.* Horan Optimising the biogas production from leather fleshing waste by co-digestion with MSW // Bioresource Technology, № 100. – 2009. – p. 4117–4120.

3. *Касьян Л. Е.* Стан та перспективи розвитку легкої промисловості україни // Науковий вісник Ужгородського національного університету. Випуск 6(1). – 2016. – с. 147-149.

4. ГОСТ 26713-85 Удобрения органические. Метод определения влаги и сухого остатка.

5. *Бунчак О. М.* Еколого-агротехнічне обгрунтування утилізації відходів шкіряного виробництва та осаду очисних споруд: автореф. дис. … на здоб. ступеня к. с-г н.: 03.00.16 / Бунчак О. М.; НАН України. – Дніпропетровськ – 2011. – 23 с.

6. *Пат.* 85187 Україна, МПК (2013.01) G01F 11/00. Спосіб отримання органічних добрив нового покоління із збалансованим вмістом тривалентного хрому / О. М. Бунчак, І. П. Мельник, Н. М. Колісник, В. С. Гнидюк; власники О. М. Бунчак, І. П. Мельник, Н. М. Колісник, В. С. Гнидюк. – № u201306563; заявл. 27.05.2013; опублік. 11.11.2013, Бюл. № 21. – 4 с.

7. *Wintana Kassahun* Preparation of leather Fat liquor cum filler from fleshing waste for Retanning process in leather manufacture Addis Ababa, Ethiopia, 2014.

8. *Luis Ramos & other* Biodiesel Production from Leather Industry Wastes / 10th International Chemical and Biological Engineering Conference - CHEMPOR 2008, held in Braga, Portugal, between September 4th and 6th, 2008.

Green energy from wastes Biomethanation Projects for Urban and Industrial Wastes set up under UNDP/GEF assisted Project on Development of High Rate Biomethanation Processes as means of Reducing Greenhouse Gases Emission. INDIA, 2006. 104 p.

АНАЛІЗ СУЧАСНОГО АСОРТИМЕНТУ ПОЛІМЕРНОЇ УПАКОВКИ, ЗДАТНОЇ ДО БІОДЕСТРУКЦІЇ

Костянтин Ткачук, Людмила Дядюша

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна

Abstract. By creating and using packing material packaging materials that have high environmental parameters and capable of biodegradation,.

Keywords: biodegradation, biopolymers, biosynthetical polymeric materials, polyethylene, starch.

Вступ. Актуальність даної роботи в тому, що ринок упаковки розвивається і вдосконалюється відповідно до динаміки ринку товарів, а сучасною тенденцією пакувальної індустрії стало надання полімерній упаковці не тільки потрібного рівня бар'єрних і механічних властивостей, але і здатності виконувати додаткові функції. Фактично йде еволюція створюваних людиною пакувальних матеріалів від простих до багатофункціональних. Динамічний розвиток ринку споживчої упаковки, виконаної на основі плівкових матеріалів, супроводжується накопиченням великих обсягів твердих побутових відходів синтетичного походження, що піднімає проблему підвищення екологічних властивостей пакувальних плівкових матеріалів.

Метою роботи є створення пакувального матеріалу, який володіє всіма корисними споживчими властивостями пластичних мас і високими екологічними показниками, стало актуальною проблемою.

Одне з найбільш перспективних і швидко напрямків в цій галузі полягає в організації виробництва екологічно чистої біодеструктивної полімерної упаковки. Така упаковка зберігає свої властивості практично незмінними протягом терміну експлуатації, а при компостуванні під впливом природних факторів і мікробіоти (бактерій, дріжджів, грибів) руйнується, зазнаючи

прискорені фізико-хімічні та біологічні перетворення. Утилізація біодеструктивних твердих побутових відходів не вимагає додаткових площ під звалища, а продукти біодеструктивних відходів в ґрунті при грамотній організації звалищного господарства не мають шкідливого впливу на екологію.

Ідея створення матеріалів для упаковки, яка швидко розкладаються в ґрунті, знаходиться в центрі уваги вчених вже понад 35 років. Основна активність в сфері біопластиків концентрується в Європі, Японії і США. В даний час світове виробництво біодеструктивних полімерних упаковок становить 495000 т / рік, а за прогнозами до 2020 р обсяг випуску біорозкладаної упаковки складе 5% від всіх пакувальних полімерів, або 1,4 млн т / рік.

Матеріали і методи дослідження. Біодеструктивні пакувальні полімерні матеріали природного походження виробляють з використанням поновлюються біологічних ресурсів. В якості сировини застосовують дешеві і швидко поновлювані полісахариди: рослинного походження (крохмаль, декстрини, пектини, целюлозу, деревину, лігнін), тваринного походження (хітин), а також білки - желатин, казеїн, кератиновмісні продукти, колаген. Біорозкладані пакувальні полімерні матеріали, синтезовані методами біотехнології, є поліефіри на основі гідроксікарбонових кислот: молочної (лактид), гліколевої (гліколід), капронової (полікапролактони), а також поліоксімасляной кислоти.

Одним з найбільш поширених в даний час біорозкладаних пластиків цієї групи є полілактид – продукт поліконденсації молочної кислоти. З полігідроксіалканоатов для виробництва біорозкладаної упаковки найбільш широко відомий в даний час полігідроксібутірат.

Біорозкладані пакувальні полімери, одержувані хімічним синтезом, виробляють шляхом поліконденсації і полімеризації мономерів, взаємодією олігомерів з подовжувачами ланцюга, хімічним модифікуванням синтетичних і природних полімерів. Аналізуючи підходи до організації промислового

виробництва екологічно безпечної полімерної плівки, слід визнати, що для розробників країн СНД найбільш прийнятною стратегією є метод наповнення синтетичних полімерів частками природних полімерів і подальша технологічна переробка отриманого композиційного матеріалу в виріб, здатний до біодеструкції при компостуванні.

У біодеструктивних матеріалах цього типу ґрунтові мікроорганізми зазвичай повністю знищують найбільш біосумісні компоненти природного походження (наприклад, крохмаль), внаслідок чого пакувальні матеріали починають прискорено деградувати в ґрунті, втрачаючи міцність і масу. Лише поступово вони перетворюються в перфоровані структури, дисперсні частинки або низькомолекулярні фрагменти, що не представляють небезпеки для довкілля.

Таким чином, на сьогоднішній день в світі відома досить широка номенклатура біодеструктивних пакувальних матеріалів, отриманих на основі біополімерів, а також шляхом мікробіологічного і хімічного синтезу. Проте, невеликі обсяги випуску таких матеріалів, висока вартість і мала продуктивність технологічних ліній дають підставу для пошуку альтернативних рішень проблеми підвищення біодеструкції полімерних пакувальних плівок. Полімери знаходять широке застосування, зокрема, служать вихідним сировиною для отримання пакувальних матеріалів.

Полімерні матеріали в харчовій промисловості задовольняють вимогам механічної міцності, хімічної стійкості до дії компонентів харчового продукту, економічності, доступності, не високою вартості вихідної сировини. Однак, незважаючи на свої привабливі властивості, пластикові деталі мають ряд недоліків. Два основних з них полягають у наступному: по-перше, полімерні матеріали виробляються з невідновлювальних природних ресурсів - нафти, вугілля, газу і, по-друге, їх довговічність, яка в довгостроковій перспективі обернулася одним з головних недоліків. З ростом світового виробництва

полімерних матеріалів все більш загострюється проблема захисту навколишнього середовища від полімерного сміття.

На сучасному етапі розвитку суспільства виник новий підхід до розробки полімерних матеріалів. Він має на меті одержання полімерів, які зберігають експлуатаційні характеристики тільки протягом періоду споживання, а потім зазнають фізико-хімічні та біологічні перетворення під впливом чинників довкілля і легко включаються в процеси метаболізму природних біосистем. В середині 90-х рр. минулого століття вже стали з'являтися численні повідомлення про створення так званого біопластика, матеріалу, зробленого з натурального крохмалю, який через деякий час розкладається різними мікроорганізмами. Однак широкомасштабне впровадження в наше життя біопластмаси поки не почалося: занадто дорогим виявилося його виробництво. На початку нашого століття вчені все ж знайшли можливість знизити витрати на виробництво біопластика, при цьому вчені стверджують, що в недалекому часу вартість його виробництва буде не вище, ніж звичайної пластмаси. Саме біодеструкція високомолекулярних сполук і буде тим пріоритетним напрямком розробки, яке дозволить виключити значну кількість проблем управління відходами з пластмаси.

Результати і обговорення. Здатність полімерів розкладатися і засвоюватися мікроорганізмами залежить від ряду їх структурних характеристик. Найбільш важливими є хімічна природа полімеру, молекулярна маса, розгалуженість макроланцюга (наявність і природа бічних груп), надмолекулярна структура.

Природні і синтетичні полімери, що містять зв'язку, які легко піддаються гідролізу, мають високу здатність до біодеструкції. Присутність замінників полімерного ланцюга часто сприяє підвищенню біодеструкції.

Біодеструкція залежить також від ступеня заміщення ланцюга і довжини її ділянок між функціональними групами, гнучкості макромолекул. Важливим фактором, який визначає стійкість полімеру до біодеструкції, є величина його

молекул. У той час як мономери або олігомери можуть бути уражені мікроорганізмами і служать для них джерелом вуглецю, полімери з великою молекулярною масою є стійкими до дії мікроорганізмів. Біодеструкцію більшості технічних полімерів, як правило, ініціюють процесами небіологічного характеру (термічне і фотоокислення, термоліз, механічна деградація і т.п.). згадані деградаційні процеси призводять до зниження молекулярної маси полімеру. При цьому виникають низькомолекулярні біоасимулюючі фрагменти, що мають на кінцях ланцюга гідроксильні, карбонільні або карбоксильні групи.

Не менш значущим фактором, який впливає на біодеградацію, є надмолекулярна структура синтетичних полімерів. компактне розташування структурних фрагментів напівкристалічних і кристалічних полімерів обмежує їх набухання у воді і перешкоджає проникненню ферментів в полімерну матрицю. Це ускладнює вплив ферментів не тільки на головну вуглецевий ланцюг полімеру, а й на біоруйнуючі частини ланцюга. Аморфна частина полімеру завжди менш стійка до біодеструкції, ніж кристалічна.

Найдешевшим методом отримання подібних композицій («Полімер / біорозкладаний наповнювач») є пряме змішування компонентів. В цьому випадку наповнювач присутній в БСПМ у вигляді макрочасток (конгломератів мікрочастинок) розміром 10-100 мкм. Величина макрочасток в БСПМ залежить від енергії міжфазної взаємодії та зсувного напруження в процесі екструзії. матеріал з такої суміші є частково біодеструктивним, так як матричний синтетичний полімер розпадається в кращому випадку на шматочки. При змішуванні біодеструктивного наповнювача з синтетичним полімером на мікрорівні (розмір частинок менше 10 мкм) компоненти суміші утворюють взаємопроникну сітчасту структуру з набагато більшою питомою міжфазною поверхнею, що сприяє більш інтенсивної деструкції матричного синтетичного полімеру. Загальною тенденцією при розробці і створенні всіх полімерних композицій є забезпечення рівномірного розподілу часток біодеструктивної

добавки мінімально можливого розміру – 10 мкм і менше, що, по суті, відносить формування подібних композицій до області нанотехнології.

В останні роки зріс інтерес до крохмалю як до одного з найбільш дешевих видів сировини для організації промислового виробництва біопластика. Крохмаль – полісахарид, що накопичується в процесі життєдіяльності рослин в їх бульбах, насінні, стеблах і листках.

Біодеструктивні БСПМ з активним рослинним наповнювачем вперше з'явилися в 70-80-х рр. минулого століття на ринку упаковки в США, Італії, Німеччини. Це були композиції крохмалю з різними синтетичними полімерами. Порівняно з термопластами матеріали з добавкою пластифікуючого крохмалю вдало поєднували технологічність і високі експлуатаційні характеристики, властиві синтетичному компоненту, ось щодо здатності до біодеструкції, зумовленої наявністю в їх складі природного полімеру (крохмалю).

Найчастіше крохмалем модифікували поліетилен (ПЕ) – самий великотоннажний полімер, найбільш затребуваний не тільки в індустрії харчової та нехарчової упаковки, але і в легкій промисловості, медицині та інших галузях.

З суміші поліетилену високого тиску і крохмалю, модифікованого введенням в його молекули холестеринових залишків, отримані роздувні плівки. У порівнянні з матеріалами з нативного крохмалю плівки більш однорідні і характеризуються більшою міцністю, їх біодеградація в компості проходить швидше.

Пропонуємо варіант модифікації ПЕ малеїновим ангідридом з метою підвищення його сумісності з крохмалем для отримання біодеструктивних плівкових матеріалів. З полімерних матеріалів обраний поліетилен тому, що він знаходить широке застосування і проблема утилізації ПЕ матеріалів дуже актуальна.

Висновки. В умовах українського ринку найбільш економічним і доступним шляхом створення біодеструктивних матеріалів є вдосконалення

технології переробки великотоннажних полімерів, які із застосуванням модифікуючих добавок, що додають отриманому композиційному матеріалу властивість біодеструкції при компостуванні. Необхідно , як найшвидше, переходити до промислового виробництва біодеструктивних матеріалв для виробів, призначених для використання в побуті, промисловості і сільському господарстві.

Створення пакувальних матеріалів, здатних після закінчення терміну експлуатації розпадатися на фрагменти, що утилізуються ґрунтом, дозволяє істотно знизити навантаження на навколишнє середовище і запобігти небезпеці виникнення техногенних катаклізм. При цьому пріоритетним є вирішення проблеми оптимального співвідношення компонентів, забезпечує, перш за все, біодеструктивність системи, а також високі фізико-механічні властивості та прийнятну вартість матеріалу. Оскільки, біополімерні компоненти в полімерному матеріалі є джерелом вуглецевого живлення мікроорганізмів, то в залежно від змісту і активності природних полімерів можна регулювати час і інтенсивність процесів руйнування виробів.

Список літератури

1. Богатова, И.Б. Полимеры и полимерные материалы в пищевой промышленности: Учебное пособие. - Тольятти: Кассандра, 2010. – 93 с.

2. Власов, С.В., Ольхов, А.А. Биоразлагаемые полимерные материалы // Полимерные материалы. - 2006. - № 10 (89). - С. 28-33. 3. Торопцева, А.М., Белогородская, К.В., Бондаренко, В.М. Лабораторный практикум по химии и технологии высокомолекулярных соединений. – Л.: Химия, 1972. – С. 143.

4. Зеленецкий, А.Н., Сизова, М.Д., Волков, В.П., Артемьева, Н.Ю., Егорова, Н.А., Никольская, В.П. Механохимическая модификация полиолефинов в твердом состоянии // Высокомолек. соед., А. - 1999. - Т. 41. - № 5. - С. 798.

МІГРАЦІЯ ТА РОЗПОДІЛ СВИНЦЮ В ОСНОВНИХ КОМПОНЕНТАХ ЕКОСИСТЕМИ ГРАБОВОЇ ДІБРОВИ

Світлана Задира

Національний університет харчових технологій, м. Київ,Україна

Abstract. The epiphase of soil is the basic depot of lead in forest ecosystems was established. Thus, lead (Pb) is very migrant in the basic components (leaves of HORNBEAM and forest laying) of the investigated ecosystems of hornbeam forest.

Keywords: lead (Pb), environmental pollution, migration

Вступ. На території України суттєве техногенне навантаження зазнають екосистеми Середнього Придніпров'я – одного з найнаселеніших та промислово розвинених регіонів України. Основними джерелами формування такого антропогенного впливу є різноманітні промислові підприємства з пірогенним виробництвом. Найбільш потужним забруднювачем Київського регіону небезпечними хімічними речовинами є велике підприємство – Трипільська теплоелектростанція (ТЕС), викиди якої складають понад 21 тис. т/рік, що становить 84% усіх викидів в атмосферу підприємств області. Як наслідок, збільшується забруднення важкими металами природних та агро-екосистем, що знаходяться в зоні впливу великого підприємства, через екстенсивний підхід до використання теплоенергії. В результаті як ніколи є актуальним дослідження міграції та розподілу токсикантів і їх вплив на природні екосистеми.

Матеріали і методи дослідження. Для проведення досліджень міграції та розподілу свинцю у екосистемі грабової діброви було обрано три райони в межах правобережної частини Середнього Придніпров'я з різним ступенем антропогенного навантаження: Канівський природний заповідник (Черкаська обл.), Національний природний парк (НПП) «Голосіївський» (у межах м.

Києва), район впливу Трипільської ТЕС (Київська обл.). Райони проведення досліджень є подібними за фітоценотичною структурою ландшафтів, що являє собою грабову діброву. Вміст свинцю у верхньому 10-см шарі ґрунту, лісовій підстилці та листі грабу визначали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометру С115-М1 (полум'я ацетилен-повітря) з дейтерієвим коректором фону і комп'ютерно-аналітичним комплексом КАС-120 (SELMICHROM, Україна). Вміст металу у зразках розраховували у мг/кг маси повітряно-сухих зразків.

Результати і обговорення. Найбільший вміст Pb у всіх досліджуваних лісових екосистемах зареєстрований у ґрунтовому покриві (рис. 1). Можна відмітити, що в Канівському природному заповіднику, НПП «Голосіївський» та районі впливу Трипільської ТЕС спостерігається однаковий розподіл свинцю в основних компонентах екосистем.

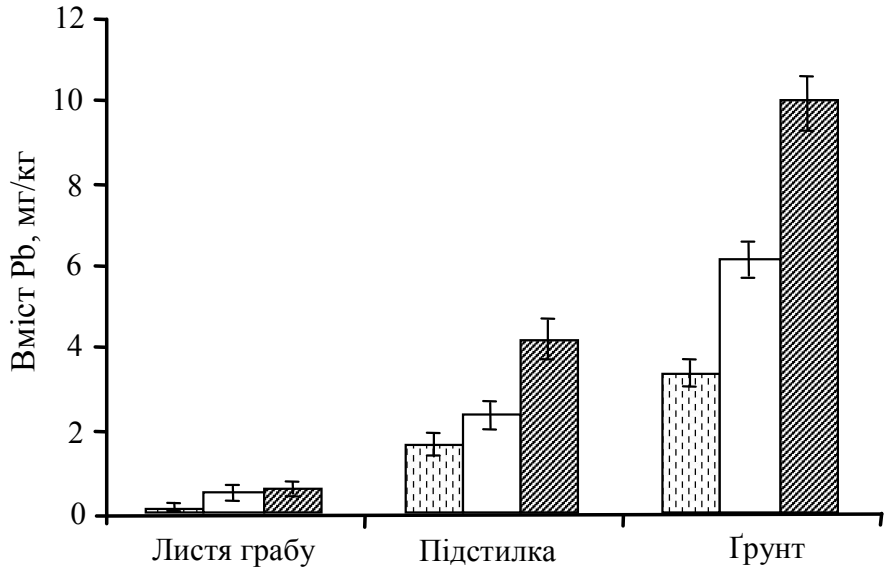


Рис. 1. Вміст Pb у листі грабу, лісовій підстилці та ґрунтовому покриві на досліджуваних територіях:

▨ – Канівський природний заповідник; □ – НПП «Голосіївський»; ▨ – район впливу Трипільської ТЕС

На території Канівського природного заповідника вміст Pb у ґрунті виявився в 34 разів більше відповідного вмісту у листі грабу та в 2 рази більше вмісту металу у лісовій підстилці. У порівнянні з листям грабу, вміст свинцю виявився у 16 разів більше в лісовій підстилці (p<0,05). В НПП «Голосіївський» вміст Pb у ґрунті виявився в 13 разів більше відповідного вмісту у листі грабу та в 3 рази більше вмісту металу у лісовій підстилці. У порівнянні з листям грабу, вміст свинцю виявився в 5 разів більше у лісовій підстилці (p<0,05). В умовах впливу Трипільської ТЕС вміст Pb у ґрунті виявився в 19 разів більше відповідного вмісту у листі грабу та в 2 рази більше вмісту металу у лісовій підстилці. У порівнянні з листям грабу, вміст свинцю виявився у 8 разів більше в лісовій підстилці (p<0,05).

Вміст свинцю у листі грабу позитивно корелює з вмістом металу у ґрунтовому покриві в досліджуваних лісових екосистемах (коефіцієнт непараметричної кореляції Спірмена: r_S=0,908). Також позитивна кореляція зафіксована між вмістом Pb у лісовій підстилці та ґрунтом (r_S=0,991).

Коефіцієнт акумуляції (K_a) свинцю лісовою підстилкою на трьох територіях дослідження вище, ніж коефіцієнт біологічного поглинання ($K_{бп}$) Pb листям грабу (табл. 1).

Таблиця 1. Коефіцієнт біологічного поглинання та коефіцієнт акумуляції Pb основними компонентами досліджуваних екосистем грабової діброви (n=3)

Коефіцієнт	Територія дослідження		
	Канівський природний заповідник	НПП «Голосіївський»	Район впливу Трипільської ТЕС
$K_{бп}$	0,03	0,07	0,05
K_a	0,48	0,39	0,42

На території Канівського природного заповідника $К_{бп}$ Pb листям грабу відповідно з ґрунту складає 0,03, що менше в 16 разів (p<0,05), ніж $К_а$ свинцю лісовою підстилкою з ґрунту (0,48). В НПП «Голосіївський» $К_{бп}$ Pb листям грабу складає 0,07, що менше в 6 разів (p<0,05), ніж $К_а$ свинцю лісовою підстилкою (0,39). В умовах впливу Трипільської ТЕС $К_{бп}$ Pb листям грабу складає 0,05, що менше у 8 разів (p<0,05), ніж $К_а$ свинцю лісовою підстилкою (0,42). Отже, на всіх трьох територіях дослідження свинець найбільше акумулюється в лісовій підстилці, ніж у листі грабу.

Найвищий $К_а$ Pb зареєстрований в Канівському природному заповіднику, проте вміст свинцю у лісовій підстилці цієї території є найменшим. Можна зробити припущення, що в цій лісовій екосистемі свинець знаходиться в постійному біогеохімічному кругообігу, тобто з ґрунту постійно надходить у незначній кількості (оскільки $К_{бп}$ Pb листям грабу є найменшим) до рослин, з яких потім мігрує з опадом листя до лісової підстилки, де цей метал акумулюється. Найбільший $К_{бп}$ Pb листям грабу відмічений у НПП «Голосіївський», тоді як $К_а$ Pb лісовою підстилкою є найменшим, у порівнянні з двома іншими територіями. Очевидно, що у цій екосистемі вихлопні гази та сажові частинки спочатку поглинаються листям, потім потрапляють до лісової підстилки та надходять до ґрунту. Найвищий вміст свинцю у листі грабу, лісовій підстилці та ґрунтовому покриві зареєстрований в умовах впливу Трипільської ТЕС, що підтверджує факт про високий рівень забруднення атмосфери постійним джерелом емісії металу (ТЕС).

У літературі відмічені неоднозначні дані про те, що свинець з ґрунту потрапляє в рослини (листя грабу), де накопичується у значній кількості та передається далі (лісова підстилка, тварини) по трофічному ланцюгу. Проте більшість дослідників вказують на те, що свинець у незначній кількості накопичується у коренях і майже не транспортується у надземні частини рослин – тобто, біоакумуляція Pb практично не відбувається [1, 3]. Подібні результати отримані в нашому дослідженні: свинець на трьох територіях дослідження найбільше акумулюється в ґрунтовому покриві та поглинається рослинами у мінімальних кількостях.

Відомо, що чим більше коефіцієнт біологічного поглинання, тобто чим інтенсивніше рослина поглинає свинець з ґрунту, тим більше буде і біогенна акумуляція цього металу у верхньому горизонті – тобто, у лісовій підстилці [2]. Було досліджено, що інтенсивний опад листя рослин у літній період в умовах постійного впливу забруднення довкілля важкими металами спричинює депонування свинцю у лісову підстилку [3].

За нашими результатами $К_{бп}$ Pb та $К_а$ Pb на досліджуваних територіях менше 1, тобто можна зазначити, що для досліджуваних лісових екосистем характерна загальна закономірність розподілу та міграції свинцю в основних компонентах, яка проявляється у незначному накопиченні свинцю в листі грабу та лісовій підстилці.

Подібні результати були отримані іншими дослідниками, які вивчали особливості міграції важких металів в системі «ґрунт – рослина» [2]. Вони вказували, що з атмосфери свинець потрапляє до ґрунту та води, з ґрунту – до води та рослинності, з води та рослинності – в лісову підстилку, організм тварин, у донні відклади або знову до ґрунту, з донних відкладів – у водяну рослинність і знову до води в результаті каламучення чи хімічних реакцій, з організмів тварин та лісової підстилки – до ґрунту, з ґрунту – в атмосферу із пилом. При цьому Pb повільно розсіюється, але забруднює значні території та акваторії. Тобто основним депо свинцю є ґрунт. З атмосфери до ґрунту свинець потрапляє найчастіше у формі оксидів, де поступово розчиняється та переходить у гідроксиди, карбонати чи вільні катіони. Якщо ґрунт міцно зв’язує Pb, то це є захистом від забруднення ґрунтової води та рослин, але тоді ґрунт поступово стає все більш забрудненим і в певний момент виникає руйнування його органічної речовини з переходом свинцю до ґрунтового розчину. У верхньому 5 см шарі ґрунту Pb накопичується більш інтенсивно, ніж Cu, Mo, Fe, Ni та Cr [1]. Загальна кількість Pb, яку може затримати верхній органічний шар ґрунту на 1 га досягає 500-600 т [3]. Тверді сполуки свинцю у ґрунтах знаходяться у взаємодії з ґрунтовим розчином, через який відбувається, як надходження елементу до рослин, так і ґрунтова міграція та трансформація його сполук.

Свинець не є життєво необхідним мікроелементом для живлення рослин. Було досліджено, що високий вміст цього елементу у лісових підстилках (в середньому 77 мг/кг) забруднених районів зумовлений постійним надходженням Pb з атмосфери, однак при цьому він не поглинається у значній кількості деревними та трав'янистими рослинами [2]. З'ясовано, що причиною інтенсивного літнього листопаду є високий вміст свинцю у повітрі. Дерева, які концентрують Pb, можуть очищувати повітря. Впродовж вегетаційного періоду одне дерево може знешкоджувати сполуки свинцю, які містяться у 130 л бензину [3]. Відомо, що найменше накопичує свинець клен, тоді як ліщина та смерека найбільше накопичують Pb. Хвоя сосен та ялин виконує роль фільтра по відношенню до свинцю. На фонових та забруднених територіях хвоя інтенсивно накопичує Pb й не передає цей метал далі по трофічним рівням [2].

Висновки. Таким чином, можна відмітити, що за нашими результатами верхній шар ґрунту є основним депо свинцю у лісових екосистемах, тоді як найменше накопичує свинець вид-едифікатор (*Carpinus betulus*) грабового лісу. Тобто Pb є поганим мігрантом в основних компонентах (листі грабу та лісової підстилки) досліджуваних екосистем грабової діброви. Звідси випливає, що перерозподіл свинцю в Канівському природному заповіднику, НПП «Голосіївський» та районі впливу Трипільської ТЕС відбувається наступним шляхом: рослини => лісова підстилка => ґрунт.

Список літератури

1. *Курляндский Б.А., Филов В.А.* Общая токсикология. – М.: Медицина, 2002. – 606 с.

2. *Kim M.J., Ahn K.H., Jung Y.* [et al.] Arsenic, cadmium, chromium, copper, lead and zinc contamination in mine tailings and nearby streams of three abandoned mines from Korea // Bulletin Environmental Contamination Toxicology. – 2003. – Vol. 70, N 5. – P. 791-942.

3. Meagher R.B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants // Current Opinion in Plant Biology. – 2000. – N 3. – P. 153-162.

СИНТЕЗ МІКРОБНОГО ПОЛІСАХАРИДУ ЕТАПОЛАНУ НА ОЛІЄВМІСНИХ ПРОМИСЛОВИХ ВІДХОДАХ

Микола Івахнюк, Андрій Вороненко

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The possibility of refined sunflower oil replacing for the synthesis of microbial exopolysaccharide ethapolan (producer *Acinetobacter* sp. IMV B-7005) to the waste after potato and meat frying was established. Maximum ethapolan synthesis (polysaccharide concentration 14-15 g/l) was observed under strain IMV B-7005 cultivation on the waste after meat frying oil, using inoculum grown on refined oil.

Keywords: microbial polysaccharides, ethapolan, waste sunflower oil, biosynthesis.

Вступ. Мікробні екзополісахариди (ЕПС) – це високомолекулярні полімери вуглеводної природи, які широко використовуються у харчовій, парфумерній та текстильній промисловості та нафтовидобуванні завдяки своїм властивостям змінювати реологічні характеристики водних систем [1].

Вітчизняним полісахаридом мультифункціонального призначення є етаполан, продуцентом якого є ауксотрофний (за пантотенатом кальцію) штам *Acinetobacter* sp. IMB B-7005. Особливістю етаполану є здатність його розчинів до емульгування та підвищення в'язкості за присутності одно- та двовалентних катіонів, при зниженні pH та в системі Cu^{2+}-гліцин [2].

Переважну більшість відомих мікробних ЕПС одержують на основі вуглеводних субстратів [2]. Останніми роками активізувалися дослідження щодо використання промислових відходів як субстратів для одержання практично цінних мікробних метаболітів. Перспективними для використання у мікробних технологіях є олієвмісні відходи, об’єми яких надзвичайно великі.

Найбільш поширеним способом утилізації відпрацьованої олії є її використання для отримання біодизелю [3]. Незважаючи на екологічні переваги, дана технологія має ряд недоліків: висока вартість процесу,

утворення побічного продукту (гліцерину), короткий термін придатності біопалива [4]. У зв'язку з цим, більш вигідним методом утилізації відпрацьованих олій є їх використання як субстрату для отримання продуктів мікробного синтезу, в тому числі й екзополісахаридів.

Раніше було встановлено можливість використання рафінованої соняшникової олії як джерела вуглецю та енергії для синтезу етаполану [5]. Проте у цих дослідженнях концентрація олії у середовищі становила всього 1%. Оскільки відпрацьована (пересмажена) олія є токсичним відходом, що накопичується у величезних кількостях і викиди якого в Україні не регламентуються, то у разі утилізації біоконверсією у практично цінні мікробні метаболіти вміст її у середовищі культивування продуцента повинен бути якомога вищим.

Мета роботи. Дослідження синтезу мікробного полісахариду етаполану на середовищі з максимально можливою концентрацією відпрацьованої соняшникової олії.

Матеріали і методи. Як об’єкт досліджень використовували ЕПС-синтезувальний штам бактерій *Acinetobacter* sp. 12S, який депонований в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології національної академії наук України за номером ІМВ В-7005.

Культивування *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 здійснювали на рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): KH_2PO_4 – 6,8; КОН – 0,9; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,4; $CaCl_2 \times 2H_2O$ – 0,1; NH_4NO_3 – 0,4; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,001. В деяких варіантах концентрацію нітрату амонію підвищували до 0,6 і 0,8 г/л.

Як джерело вуглецю та енергії використовували рафіновану соняшникову олію «Олейна», відпрацьовану після смаження картоплі і м'яса олію (мережа ресторанів швидкого харчування Mcdonald's, Київ), а також нерафіновану соняшникову олію (1–5 %, об’ємна частка). Як посівний матеріал використовували культуру з експоненційної фази росту, вирощену на середовищі наведеного складу з 0,5 % (об’ємна частка) олії різного типу. Кількість посівного матеріалу становила 10 % від об’єму середовища.

Так як штам ІМВ В-7005 є ауксотрофом за пантотенатом, тому в дослідженнях використовували мультивітамінний препарат «Комплевіт» у

концентрації 0,00085–0,00095 % (масова частка в перерахунку на пантотенат кальцію). Додатково в середовище вносили 0,5 % (об'ємна частка) дріжджового автолізату, ністатин та стрептоміцин у концентрації 400 мкг/мл.

Культивування штаму IMB B-7005 здійснювали в колбах об'ємом 750 мл із 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30 ºС упродовж 120 год.

Концентрацію біомаси визначали за оптичною густиною клітинної суспензії з наступним перерахунком на абсолютно суху біомасу (АСБ) у відповідності з калібрувальним графіком. Кількість етаполану визначали ваговим методом. ЕПС-синтезувальну здатність визначали як відношення концентрації ЕПС до концентрації АСБ та виражали у г ЕПС/г АСБ.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили за Лакіним [6]. Результати досліду у відповідності з t-критерієм Стьюдента виявилися статистично достовірними при 5 %-му рівні значимості.

Результати і обговорення. На першому етапі досліджували синтез етаполану залежно від концентрації у середовищі культивування *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 рафінованої соняшникової олії (табл. 1). Експерименти показали, що збільшення вмісту такої олії у середовищі культивування штаму IMB B-7005 до 2−3 % супроводжувалося підвищенням кількості синтезованого етаполану до 11,0−11,9 г/л, проте за вищої концентрації субстрату (4−5 %) показники синтезу ЕПС знижувалися.

Таблиця 1. Синтез етаполану залежно від концентрації рафінованої олії у середовищі культивування Acinetobacter sp. IMB B-7005

Концентрація соняшникової олії у середовищі, %	ЕПС, г/л	г ЕПС/г АСБ
1	9,5±0,48	5,0±0,25
2	11,0±0,55	4,7±0,23
3	11,9±0,59	4,0±0,20
4	9,5±0,47	3,7±0,19
5	9,3±0,4	3,6±0,18

Примітка. Концентрація пантотенату у середовищі − 0,00085 %, нітрату амонію – 0,4 г/л. Табл. 1−3: посівний матеріал вирощений на рафінованій олії.

Оскільки у разі підвищення концентрації джерела вуглецю у середовищі культивування продуцента змінюється співвідношення C/N, яке суттєво впливає на рівень синтезу мікробних полісахаридів [2], на наступному етапі одночасно із збільшенням вмісту олії підвищували і концентрацію джерела азоту та пантотенату, за яким штам ІМВ В-7005 є ауксотрофом (табл. 2).

Таблиця 2. Вплив концентрації джерела азоту та пантотенату на синтез етаполану за умов росту штаму ІМВ В-7005 на рафінованій олії

Концентрація у середовищі			ЕПС, г/л
нітрату амонію, г/л	пантотенату, %	соняшникової олії, %	
0,4	0,00085	4	9,1±0,46
		5	9,3±0,47
	0,00095	4	10,6±0,53
		5	12,0±0,60
0,6	0,00085	4	10,6±0,53
		5	12,1±0,61
	0,00095	4	10,4±0,52
		5	12,5±0,63

Встановлено, що за умов росту *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 у середовищі з підвищеною концентрацією олії (4−5 %), NH_4NO_3 (0,6 г/л) та пантотенату (0,00095 %) концентрація етаполану досягала 12,5 г/л ЕПС.

На наступному етапі досліджували синтез етаполану на нерафінованій і відпрацьованій соняшниковій олії. У цих дослідженнях незалежно від використовуваного субстрату в середовищі для синтезу ЕПС інокулят вирощували на рафінованій олії. Експерименти показали, що концентрація синтезованого етаполану на нерафінованій і відпрацьованій після смаження м'яса олії становила 14,4−15,5 г/л, що в 1,2 рази вище, ніж під час культивування *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 на очищеному субстраті (табл. 3).

У той же час показники синтезу ЕПС на відпрацьованій після смаження картоплі олії були найнижчими: концентрація ЕПС і ЕПС-синтезувальна здатність не перевищували 4,2 г/л і 2,8-3,3 г ЕПС /г АСБ відповідно. Очевидно, в процесі смаження картоплі утворюються речовини, що інгібують синтез ЕПС.

Таблиця 3. Синтез етаполану на соняшниковій олії різної якості

Олія у середовищі для біосинтезу ЕПС	Показники синтезу	
	ЕПС, г/л	г ЕПС/ г АСБ
Рафінована	13,1±0,66	7,5±0,38
Нерафінована	15,5±0,78	4,9±0,25
відпрацьована після смаження м'яса	14,4±0,72	6,3±0,32
відпрацьована після смаження картоплі	4,2±0,21	3,3±0,17

Примітка. Концентрація субстрату – 5 %, нітрату амонію – 0,6 г/л.

У подальших дослідженнях з метою зниження собівартості цільового продукту для отримання посівного матеріалу використовували такі самі субстрати, як і для синтезу ЕПС (табл. 4). Експерименти показали, що використання інокуляту, вирощеного на нерафінованій і відпрацьованій після смаження м'яса олії, супроводжувалося зниженням показників синтезу ЕПС на цих субстратах в порівнянні з аналогічними показниками після застосування посівного матеріалу, одержаного на рафінованій олії. Однак у разі використання відпрацьованої після смаження картоплі олії як для отримання інокуляту, так і для біосинтезу, концентрація ЕПС і ЕПС-синтезувальна здатність були відповідно в 2 і 1,3 рази вищими, ніж показники синтезу на цьому субстраті із застосуванням посівного матеріалу, вирощеного на рафінованій олії.

Таблиця 4. Синтез етаполану залежно від типу олії у середовищі для отримання інокуляту

Соняшникова олія в середовищі для		ЕПС, г/л	г ЕПС/ г АСБ
одержання інокуляту	біосинтезу ЕПС		
Рафінована	Рафінована	13,1±0,66	7,5±0,38
Нерафінована	Нерафінована	10,7±0,54	3,8±0,19
Відпрацьована після смаження м'яса	відпрацьована після смаження м'яса	9,7±0,49	5,9±0,29
Відпрацьована після смаження картоплі	відпрацьована після смаження картоплі	8,1±0,41	4,3±0,22

Примітка. Концентрація субстрату – 5 %, нітрату амонію – 0,6 г/л, пантотенату – 0,00095 %.

Зазначимо, що попри доступність та ряду технологічних переваг олієвмісних відходів (відсутність потреби у стерилізації, наявність поживних речовини, що можуть слугувати активаторами синтезу продукту), дотепер у літературі є лише поодинокі повідомлення про можливість застосування їх як субстратів для біосинтезу мікробних полісахаридів. Так, описано штам *Cellulomonas flavigena* UNP3, здатний до синтезу курдлан-подібного ЕПС за умов росту на середовищі з рослинними оліями або відповідними відходами [7]. *Xhantamonas campestris* NRRL B-1459 S4LII за умов росту у середовищі зі стічними водами виробництва оливкової олії (20 %, об'ємна частка), синтезував 7 г/л ксантану [8].

Висновки: Заміна рафінованої олії в середовищі для біосинтезу етаполану на відпрацьовану дає змогу не тільки знизити собівартість цільового продукту, а й утилізувати токсичні небезпечні відходи, викиди яких в Україні не регламентуються.

Список літератури

1. *Sellami M., Oszako T., Miled N., Ben Rebah F.* Industrial wastewater as raw material for exopolysaccharide production by Rhizobium leguminosarum // Braz. J. Microbiol. – 2015. – Vol. 46, № 2. – P. 407–413.

2. *Підгорський В.С., Іутинська Г.О., Пирог Т.П.* Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. – К.: Наук. думка, 2010. – 327 с.

3. *Безденежных Л.А., Перфилова Н.А., Мартынова Т.В.* Получение биотоплива на основе соапстока // Экологическая безопасность. – 2014. – Т 17, № 1. – С. 98–102.

4. *Uthman H., Abdulkareem A.S.* The production and characterization of ethyl ester (biodiesel) from waste vegetable oil as alternative to petro diesel // Ener. Sour. – 2014. – Vol. 36. – p. 2135–2141

5. *Пирог Т.П., Олефіренко Ю.Ю.*. Синтез екзополісахариду етаполану на соняшниковій олії залежно від якості інокуляту // Наукові праці НУХТ. – 2015. – Т 21, №1 . – С. 46–52.

6. *Лакин Г.Ф*. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.

7. *Arli S. D., Trivedi U. B., Patel K. C.* Curdlan-like exopolysaccharide production by *Cellulomonas flavigena* UNP3 during growth on hydrocarbon substrates // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2001. – Vol. 27, № 6. – pp. 1415–1422.

8. *Öner E.T.* Microbial production of extracellular polysaccharides from biomass. In: Pretreatment techniques for biofuels and biorefineries / Ed. Z.Fang. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2013. – 457p.

ОТРИМАННЯ ЛІПІДІВ ДРІЖДЖІВ *RHODOTORULA GRACILIS* IMB Y-5075 ЯК ДЖЕРЕЛА БІОПАЛИВА

Тетяна Каландирець, Вікторія Красінько

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Ганна Андріяш, Олена Тігунова, Наталія Бейко

ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», м. Київ, Україна

Abstract. Article is devoted to the study of the biosynthesis of lipids using yeast strain *Rhodotorula gracilis* IMB Y-5075 for further use as biodiesel. In this work examined the ability of yeast *Rhodotorula gracilis* IMB Y-5075 to synthesize lipids on various nutrient media (grassroots peat with different treatment, osprey pulp and paper production, the Obukhov and biomass *Panicum virgatum L*.). It was observed stimulation of lipid synthesis in the grassroots peat pulp medium after treatment (17.4 g/l).

Keywords: yeast, lipids, *Rhodotorula gracilis* IMB Y-5075, biodiesel, biomass

Вступ. В сучасних умовах особливий інтерес представляють пошук і дослідження нових альтернативних джерел енергії [1]. Одним з рішень цієї проблеми є використання мікробіологічного синтезу ліпідів, як джерела сировини для отримання біодизелю [2]. Для промислового отримання ліпідів використовують дріжджові культури, які в порівнянні з іншими мікроорганізмами мають ряд переваг: висока швидкість росту, невибагливість до складу середовищ, високий вихід ліпідів, прийнятний жирнокислотний склад). Однак, використання харчової сировини для мікробіологічної промисловості не є доцільним.

Метою роботи було отримання ліпідів за допомогою *R. gracilis* IMB Y-5075 для подальшого виробництво біодизелю.

Матеріали та методи. Об'єкт досліджень − дріжджі *R. gracilis* IMB Y-5075 з «Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для харчової та сільськогосподарської біотехнології» ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України».

Посівний матеріал одержували на солодовому суслі з вмістом сухих речовин 8,0 %. З метою отримання посівного матеріалу культуру дріжджів пересівали зі скошеного солодового агару перенесенням дріжджових клітини в колбу об'ємом 0,25 л з 0,05 л стерильного поживного середовища і культивували в шейкері-інкубаторі BIOSAN ES-20 (Латвія) зі швидкістю перемішування 240 об/хв при температурі 31 ± 1 °С протягом 24 год.

Як джерело вуглецю використовували не оброблений та оброблений за допомогою кавітації [4] або вибухового автогідролізу [5] низинний торф в кількості 50,0 г/л, а також скоп після вибухового автогідролізу і біомасу дротовидного проса *Panicum virgatum L*. без оброблення (50,0 г/л). Кислотність середовища визначали на pH-метрі − pH-150M (Білорусь). Посівний матеріал вносили в середовище в кількості 10 %. Дріжджі культивували глибинним періодичним способом на качалці (240 об/хв) при температурі 31 ± 1 °С протягом від 72 годин до 166 годин. Кількісний облік ліпідів проводили згідно [4]. Кількість сухої біомаси визначали ваговим методом [5].

Всі дослідження проводили в трьох повтореннях, статистичне оброблення результатів виконували згідно [6] за допомогою програми Microsoft Excel. Різницю між двома середніми величинами вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати та обговорення. Торф – органічний матеріал, який використовують в різних сферах господарства як паливо, добриво, теплоізоляційний матеріал. Для визначення можливості використання торфу як субстрату для отримання біодизелю проведено культивування на низинному торфі дріжджів *R. gracilis* IMB Y-5075 (рис. 1).

З рис. 1 видно, що *R. gracilis* IMB Y-5075 має здатність до синтезу ліпідів на середовищі з низинним торфом. До складу торфу входять гумінові кислоти та гумінові речовини – інгібітори росту та розвитку мікроорганізмів [8].

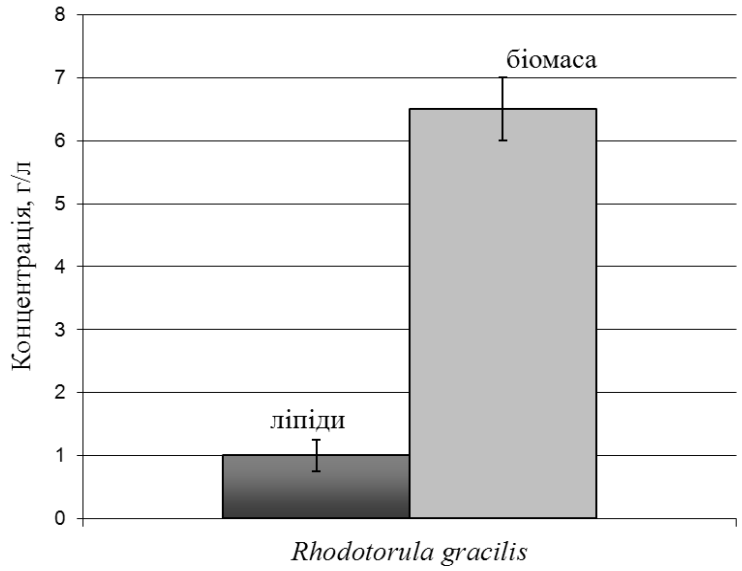


Рис. 1. Синтез ліпідів та біомаси *R. gracilis* IMB Y-5075 при культивуванні на не обробленому низинному торфі

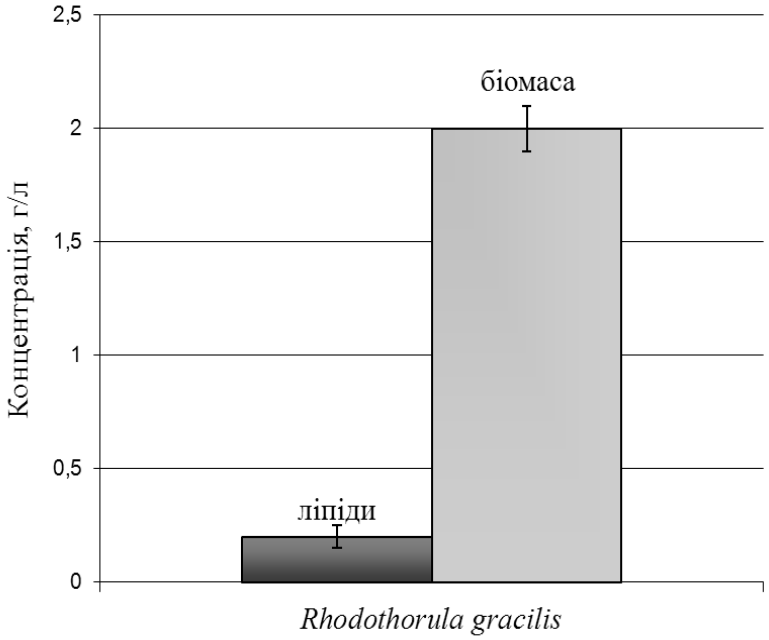


Рис. 2. Синтез біомаси та ліпідів *R. gracilis* IMB Y-5075 на низинному торфі після вибухового автогідролізу.

Для зменшення їх впливу та поліпшення доступності субстрату було проведено вибуховий автогідроліз пульпи торфу (підвищення тиску до 0,6 МПа і різке зниження тиску, що призводить до руйнування структури торфу) та здійснено культивування штаму *R. gracilis* на такому середовищі (рис. 2).

Отримані дані показали підвищення приросту біомаси для *R. gracilis* IMB Y-5075 з 2,6 до 4,0 г/л та накопичення ліпідів від 0,5 до 1,0 г/л. Для подальшого збільшення накопичення ліпідів було проведено культивування штаму на фільтраті пульпи торфу після вибухового автогідролізу [9]. При цьому накопичення біомаси та ліпідів збільшилося до 8,0 г/л та 10,0 г/л, відповідно, що свідчить про доречність використання саме фільтрату пульпи в подальших дослідженнях.

Для вивчення впливу кавітаційного оброблення пульпи торфу на накопичення ліпідів проведено культивування *R. gracilis* IMB Y-5075 та визначено концентрацію цільового продукту на 120, 144 та 168 годині культивування (рис. 3). Кавітаційне оброблення пульпи торфу виявилось найбільш перспективним для отримання ліпідів. Після 168 год культивування штам *R. gracilis* IMB Y-5075 синтезував 17,4 г/л ліпідів.

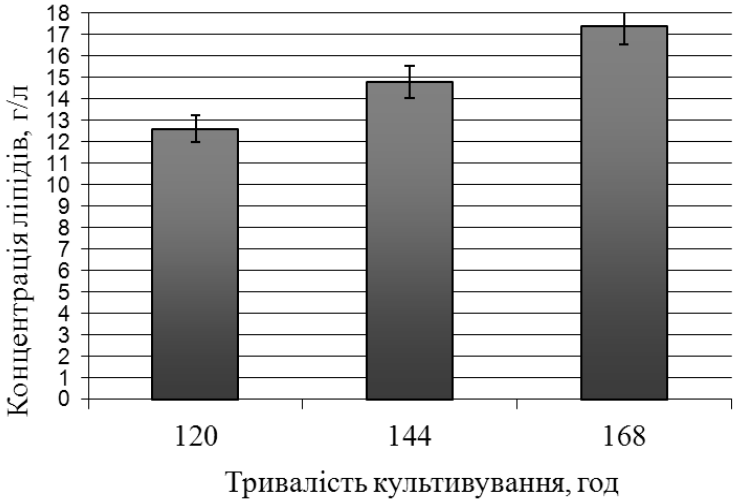


Рис. 3 Синтез ліпідів *R. gracilis* IMB Y-5075 на низинному торфі після кавітаційного оброблення

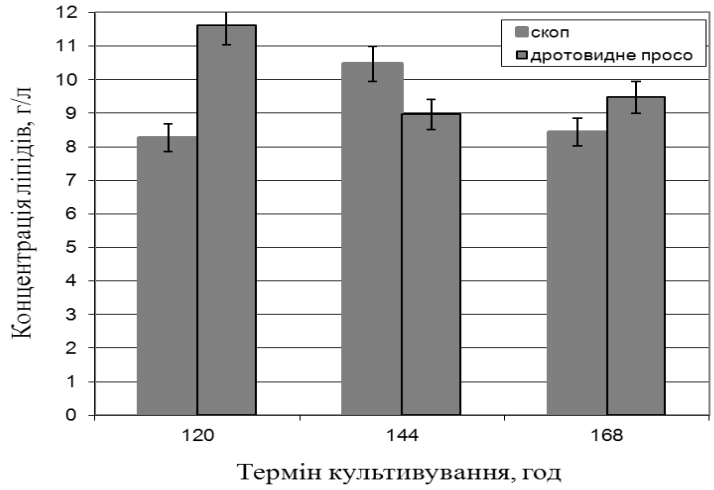


Рис. 4 Синтез ліпідів *R. gracilis* на целюлозовмістних субстратах

Для порівняння різних целюлозовмісних нехарчових субстратів було проведено культивування за використання скопу та біомаси *Panicum virgatum L.*, як джерела вуглецю (рис. 4).

Як видно з рис. 4, культивування штаму на різних субстратах призводило до синтезу ліпідів, але для кожного субстрату час максимального накопичення ліпідів є різним. Так, оптимальним терміном культивування за використання скопу встановлено 144 год, а дротовидного проса – 120 год. При цьому при культивуванні за використання біомаси дротовидного проса навіть без її оброблення кількість синтезованих ліпідів становила 11,6 г/л.

Висновки. В роботі було показано можливість використання целюлозвмісних нехарчових субстратів для синтезу ліпідів штамом *R. gracilis* IMB Y-5075, визначено оптимальні способи оброблення субстрату (низинного торфу) для максимального накопичення ліпідів (17,4 г/л при кавітаційному обробленні). Встановлено, що такі субстрати як скоп та біомаса дротовидного проса є також перспективними для подальших досліджень синтезу ліпідів штамом *R. gracilis*.

Список літератури

1. *Гавриленко О.П.* Екогеографія України: навчальний посібник. – К.: Знання, 2008. – 646 с.

2. Кухар В. П. Біоресурси – потенціальна сировина для промислового органічного синтезу *В. П. Кухар* // Катализ и нефтехимия. – 2007. – №15. – С. 1-15.

3. Шульга С. М. Биосинтез липидов дрожжами *Rhodotorula gracilis / С. М. Шульга, А. Ф. Ткаченко, Н. Е. Бейко, А. И. Хоменко, А. С. Андрияш //* Біотехнологія. – 2010. – Т. 3, №3. – С. 58-65.

4. Соколов Г. А., Бамбалов Н. Н., Смирнова В. В., Цвирко Л. Ю. Влияние гидродинамической кавитации на выход гуминовых веществ из торфа // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 2010. № 4. С. 112–117.

5. Бамбалов Н. Н. Использование торфа в качестве органического сырья для химической переработки *Н. Н. Бамбалов* // Химия твердого топлива. № 5. 2012. 6 –12 с.

6. Baïmler E.R. Solvent extraction: kinetic study of major and minor compounds // JAOCS. – 2010. – 87, – P. 1489 – 1495

7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 300 с.

8. Герасимов Ю. Ю. Математичні методи та моделі в розрахунках на ЕОМ. Підручник для лісових вузів. - М.: МГУЛ, 2001. - 260 с.

9. Чуприна Л.А. Переробка органічних відходів: українські технології // Шляхи розвитку української науки. – 2016. – № 1. – С. 115–117.

10. *Саранчук В.І., Ільяшов М.О., Ошовський В.В., Білецький В.С.* Основи хімії і фізики горючих копалин. – Донецьк: Східний видавничий дім, 2008. – 640 с.

11. *Промтов М.А.* Перспективы применения кавитационных технологий для интенсификации химико-технологических процессов *М. А. Промтов* // Вестник ТГТУ. – 2008. – Т. 14, № 4. – С. 861– 869.

ВПЛИВ НОРОВІРУСУ НА ЗАГАЛЬНУ КІЛЬКІСТЬ СПАЛАХІВ ГОСТРО-КИШКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ

Іван Лабовка

Національний університет харчових технологій, м.Київ, Україна

Анотація. У статті розглядаються проблеми підвищення кількості гостро-кишкових інфекцій, які викликані норовірусом. Пропонуються методи швидкої детекції, для хворих із симптомами і без, щоб запобігти розвитку інфекції у хворих, які знаходяться у крайніх вікових групах.

Ключові слова: інфекція, вірус, детекція, РНК.

Вступ. Норовірус – це РНК вірус сімейства *Caliciviridae*. Раніше відомий як Norwalk, вперше був описаний в зразках випорожнення, зібраних під час спалаху гастроентериту в Норуолк, штат Огайо, і був першим вірусним агентом, що став причиною гастроентериту. В 1968 році під час спалаху який вказував на цей вірус постраждало 50 % студентів в початковій школі в Норуолк і симптомами були, перш за все нудота, блювота, діарея і лихоманка. Серед первинних випадків, 98 % скаржилися на нудоту, а 92 % вирвало, в той час як у 58 % були спазми в животі, 52 % скаржилися на млявість, 38 % мали пронос, а 34 % мали лихоманку. Поява вторинних випадків в 32 % сімейних контактів дозволило оцінити інкубаційний період тривалістю 48 год. Хвороба тривала ~ 24 годину, з повним відновленням у всіх випадках. Людський норовірус є провідною причиною епідемії гастроентериту у всіх вікових групах і є причиною спалахів цієї хвороби у лікарнях, будинках для людей похилого віку, круїзних суднах, і військових частинах. За оцінками норовірус є відповідальним за 64 000 діарейних захворювань які потребують госпіталізації, 900 000 відвідувань клініки серед дітей в промислово розвинених країнах, і близько 200,000 випадків смерті дітей <5 років в країнах, що розвиваються [1,2].

Мета та методи дослідження. Мета дослідження полягає у теоретичному вивченні та аналізі мутацій норовірусу пов'язаних з різними клінічними проявами. Обґрунтування створення молекулярно-генетичних методик з детекції і генотипуванні цього вірусу.

Провести аналіз наукових публікацій стосовно структури вірусу енцифаломіокардиту і розглянути його структуру РНК та білка капсиду. Розглянути наслідки мутації вірусу та їх вплив на його вірулентність.

Результати і обговорення. Геном норовіруса людини складається з лінійної, позитивно-чутливої РНК, яка ~ 7.6 кб в довжину. Геном ковалентно пов'язаний з вірусним білком (VPg) на 5'–кінці і поліаденілований на 3'–кінці. Є три рамки зчитування (ORFs), що почначаються ORF–1, ORF–2, і ORF–3, і які додають вісім вірусних білків. ORF–2 і ORF-3 кодують структурні компоненти віріона, вірусний білок (VP1) і VP2, відповідно. Зрілий віріон містить 90 одиниць VP1, які структуровані ікосаедричною симетрією і розташовані таким чином, щоб створити вибоїни або чашеподібні структури на поверхні вірусу. ORF-1 кодує поліпротеїни, в тому числі норовірусну протеазу і РНК-залежну РНК-полімеразу[4].

Безсимптомна інфекція. Екскреції норовірусної інфекції у безсимптомних осіб є звичайним явищем, особливо у дітей (табл. 1). Безсимптомне виділення норовіруса мало місце в 19 з 163 (11,7 %) дітей в Леоні, Нікарагуа, в той час як в приміському Мехіко, норовірус був виявлений в зразках калу 31 з 63 (49,2 %) дітей без симптомів. За 2-річний період, 37,5 % з 56 дітей, які відвідують дитячий садок в центральній частині Бразилії, по крайній мірі був один епізод безсимптомної екскреції норовіруса [6].

Безсимптомна інфекція норовіруса не обмежується особами, які проживають в менш розвинених країнах. РНК вірусу була виявлена в фекальних зразках 5 з 43 (11,6 %) дітей, які мали різні успадкування імунодефіциту госпіталі Necker в Парижі, але у яких не було шлунково-кишкових симптомів. У більш загальному плані, норовірус був виявлений в

зразках калу 361 з 2205 безсимптомних осіб в Англії, причому показник розвитку є найвищими в осіб до 5 років, більше 25 %, але у більш зрілому віці також доволі високий процент > 5 %, ті які 35 років і старше. Загальна цифра після поправки на вік склала 12 %. Безсимптомне виділення норовіруса має діагностичне значення.

Таблиця 1. Статистика детекції безсимптомної норовірусної інфекції [7]

Країна	Відділення взяття проб	Процент позитивних зразків
Нікарагуа	Педіатричне відділення	11.7 % (19/163)
Мексика	Педіатричне відділення	49.2 % (31/63)
Бразилія	Педіатричне відділення	37.5 % (21/56)
Буркіна-Фасо	Педіатричне відділення	24.8 % (31/125)
Франція	Педіатричне відділення	11.6 % (5/43)
Англія	Педіатричне відділення	16.4 % (361/2,205)
Південна Корея	Відділення обробки їжі	1.0 % (66/6,441)
Південна Корея	Відділення обробки їжі	3.4 % (26/776)

Ознаки, симптоми і перебіг захворювання. Домінантними ознаками інфекції норовіруса є блювота і пронос, як правило через короткий час після інфікування. Наприклад, при аналізі 4 спалахів інфекцій протягом 3-х років в психіатричне відділення на Тайвані, яке торкнулось 172 пацієнта і 7 медичних працівників, діарея діагностувалась в 87,5 % а блювота мала місце в 25,5 % хворих, в той час як 4,4 % скаржилися на біль в животі і у 2,2 % була лихоманка. Середня тривалість симптомів була 2,1±1,5 днів, з діапазоном від 1,2 до 2,8 днів; 86,4 % пацієнтів мали симптомів від 1 до 3 днів [4].

Ускладнення: важкі хвороби і смертність в крайніх вікових групах. Інфекції, що виникають під час спалахів GII.4 штамів пов'язані з більш важкими наслідками, включно зі смертністю, ніж інфекції під час спалахів, які не включають GII.4 штами. Похилий вік є фактором ризику для смертельного результату. Таким чином, в Нідерландах, під час спалаху інфекції норовірусу, в значній мірі спостерігалась надлишкова смертність в осіб > 85 років, що зпівпало з появою нових варіантів вірусу. Норовірусна інфекція склала 0,5 % від загального числа смертей в період з 1999 по 2007 рік у людей в цій віковій групі. Дослідження 82 пацієнтів з позалікарняною інфекцією норовіруса із середнім віком 77 років, знайшли загальний показник 30-денної смертності на 7 %, з підвищеними венозним рівнем лактату в момент госпіталізації будучи пророком смертності. Оцінки показують, що 20% випадків смерті осіб > 65 років, викликаних кишковою інфекційної хвороби, крім *Clostridium* в Англії і Уельсі з 2001 по 2006 рік були пов'язані з норовірусною інфекцією. Крім того, 13 % смертей, викликаних інфекційним захворювання кишечника були пов'язані з норовірусом [4,7].

Особи, на іншому полюсі віку також піддаються ризику. У дослідженні, проведеному в Японії за участю 71 дітей, середня тривалість захворювання була вдвічі довше (7 днів проти 3,5 днів), у дітей < 2 років, ніж в межах 2-х до 4-річного віку, а також важкість захворювання була вище. Норовірусна інфекція в доношених і недоношених новонароджених дітей викликає повний спектр симптомів і ознак, може бути пов'язана з дуже серйозними ускладненнями, такими як некротичний ентероколіт. З 8 новонароджених дітей (середній гестаційний вік, 28 тижнів), які зазнали Norovirus-асоційованого некротичного ентероколіту у віці від 15 до 38 днів, 2 померли. Ретроспективне дослідження показало, що 1 з 8 новонароджених із середнім терміном гестації 29 тижнів, інфікування норовірусом відбувається в післяпологовому віці від 8 до 92 днів, з ускладненням до некротичного ентероколіту. З решти 7

новонароджених, всі мали симптоми гастроентериту з проносом і здуттям живота, 4 мали задишку, 3 вирвало. Середня тривалість хвороби склала 5 днів (діапазон від 2 до 11 днів) [3].

Епідеміологія. Центри США з контролю і профілактиці захворювань (CDC) оцінює, що норовірус відповідає за 60 % випадків гострого гастроентериту (з відомою причиною), або за 21 мільйони випадків в Сполучених Штатах щороку. Систематичний огляд всіх доповідей стосовно норовіруса, виявленого за допомогою зворотньої транскриптазної ПЛР, показує що від 5 до 31 % випадків гастроентериту госпіталізованих пацієнтів і додатково від 5 до 36 % випадків всіх пацієнтів, які звертаються за амбулаторною оцінкою. За оцінками CDC, норовірус відповідає за 400 000 відвідувань відділень невідкладної допомоги та 71 000 госпіталізацій на рік, хоча ці цифри можуть бути заниженими через обмежену кількість пацієнтів, які звертаються за медичною допомогою на вірусних симптомах гастроентериту.

Молекулярно-діагностичні тести. Звичайний метод зворотньої трансферазної ПЛР. ЗТ-ПЛР є золотим стандартом в детекції та виявленні штаму вірусу, також є численні звичайні методи ПЛР і також були розроблені методи кількісної і якісної детекції вірусу в режимі реального часу. Для першого покоління норовірусів використовують різні праймери, які засновані виключно на першому описанні норовірусного генома. Ці аналізи недооцінили генетичну різноманітність норовірусу і тому не працюють добре з клінічними зразками. Аналізи другого покоління врахували генетичні послідовності додаткових штамів норовіруса і здебільшого використовували праймери, спрямовані на консервативні ділянки вірусної полімерази. Важливо відзначити, що для цих аналізів необхідна пост-ПЛР аналіз за допомогою зондів для гібридизації або секвенування для підвищення чутливості і специфічності.

ЗТ-ПЛР в реальному часі. Цей метод був розроблений з розвитком діагностики ПЛР, і розроблений метод діагностики використовується

спеціально для норовіруса. Загальний метод включає численні методи виявлення, включаючи, зелений SYBR, гідроліз (TaqMan) і гібридизаційні зонди. В той час як багато аналізів були спрямовані на ген вірусної полімерази, подальший аналіз послідовностей показав, що консервативна область на ORF1-ORF2 полімераз-капсидного з'єднання також може бути використана в якості ефективної мішені для виявлення. Важливо відзначити, що цей аналіз не вимагає окремої реакції ЗТ.

Для зменшення реакції встановлення вірусу і потенціалу для очищення зразка, GI і GII ORF1-ORF2 набори праймерів були оптимізовані для використання в одній мультиплексній реакції TaqMan. У цих аналізах зонди були диференційовано флуорисцентно мічені, що дозволяло одночасне виявлення і групування генів. Прості, широко реактивні аналізи, можуть бути більш важливими в гострих ситуаціях. З іншого боку, регулярне використання аналізів, які виявляють вірус та зразуж його тип, можуть одночаснго дозволити лабораторії більш оперативно проводити моніторинг епідеміологічних моделей і виділяти географічні регіони або спільноти, що вимагають подальшого вивчення [3,5].

Висновки. Норовірус є важливою причиною захворюваності у зв’язку з гострим гастроентеритом, як в медичних установах так і в суспільстві в цілом. Хоча смертність, як правило, обмежується по причині похилого віку або у дітей, хвороба справляє значний вплив на систему охорони здоров’я. Досягнення в галузі молекулярної діагностики може привести до більш раннього виявлення вірусу і скороченні кількості хворих, особливо в уразливих популяціях пацієнтів. Звіти, які ми маємо на сьогоднішній день, щодо норовірусної інфекції будуть розширені завдяки вдосконаленні методів діагностики. Крім того, глобальні зусилля по боротьбі з цією інфекцією виграють від росту знань, щодо клінічних проявів різних штамів норовірусів. Кілька додаткових факторів, таких як, успадковані мінливі ознаки господаря,

різноманітність геногруп і вірусна революція, продовжуватимуть ускладнювати процес розробки вакцин. До тих пір поки не буде розроблена ефективна і стійка вакцина, контроль за спалахами інфекції норовіруса в основному буде залежати від швидкості детекції захворювання.

Список літератури

1. *Green K.Y.* Caliciviridae: the noroviruses // *In*Knipe DM. – 2013. – Vol.1 – P.582–608

2. *Goodgame R.* Norovirus gastroenteritis // Curr Infect Dis Rep. – 2007. – Vol.9. – P.102–109. doi:.10.1007/s11908-007-0004-5

3. *Ishida S., Yoshizumi S., Ikeda T., et al*. Sensitive and rapid detection of norovirus using duplex TaqMan reverse transcription-polymerase chain reaction // J Med Virol. – 2008. – Vol.80. – P.913–920. doi:.10.1002/jmv.21142

4. *Kroneman A., Vega E., Vennema H., Vinje J, et al.* Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping // Arch Virol. – 2013. – Vol.158. – P.2059–2068. doi:.10.1007/s00705-013-1708-5

5. *Scipioni A., Bourgot I., Mauroy A., et al*. Detection and quantification of human and bovine noroviruses by a TaqMan RT-PCR assay with a control for inhibition // Mol Cell Probes. – 2008. – Vol.22. – P.215–222. doi:.10.1016/j.mcp.2008.02.003

6. *Schwartz M., Gluck M., Koon S.* Norovirus gastroenteritis after fecal microbiota transplantation for treatment of Clostridium difficile infection despite asymptomatic donors and lack of sick contacts // Am J Gastroenterol. – 2013. – Vol.108. – P.1367. doi:.10.1038/ajg.2013.164

7. *Wikswo M.E., Cortes J., Hall A.J., et al.* Disease transmission and passenger behaviors during a high morbidity Norovirus outbreak on a cruise ship, January 2009 // Clin Infect Dis. – 2011. – Vol.52. – P.1116–1122. doi:.10.1093/cid/cir144

ГРИБИ РОДУ *HERICIUM* ЯК ПЕРСПЕКТИВНІ БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ ПРИРОДООХОРОННИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ

Маргарита Ломберг

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, м. Київ, Україна

Вікторія Красінько, Марія Мірошниченко, Ольга Талько

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Анотація. Представлені результати швидкості росту 19 штамів 6 видів роду *Hericium* на агаризованих поживних середовищах з целюлозовмісними компонентами, описана морфологія культур, відзначені селективні для кожного виду середовища та відібрані штами, найбільш перспективні для використання у природоохоронних біотехнологіях.

Ключові слова: *Hericium*, швидкість росту, агаризовані середовища, целюлозовмісні компоненти.

Вступ. Актуальною проблемою людства залишається конверсія відходів, в тому числі - агропромислового комплексу. Ці відходи містять достатню кількість невикористаних біологічно активних речовин. Конверсія вирішує як екологічну проблему, так і проблему ефективного використання біоресурсів шляхом безвідходної переробки рослинної сировини. Головною передумовою біоконверсії відходів є пошук ефективних об’єктів, перш за все целюлозолітичної дії, здатних до гідролізу різних матеріалів. Вищі гриби, особливо базидіальні ксилотрофи, характеризуються надзвичайно потужними ферментними комплексами, здатними до активного руйнування складних компонентів субстратів до простих молекул. Тому як вищі гриби, так і їх позаклітинні ензими можливо ефективно використовувати як біотехнологічний інструмент трансформації відходів.

Нині базидіальні гриби розглядаються як перспективні біологічні агенти в технологіях, що вимагають розкладання лігніну і його модифікацій. Лігнін і лігнінцелюлозні відходи утворюються, головним чином, у результаті сільськогосподарської діяльності (солома), а також становлять значну частину побутових відходів і відходів деревообробної й целюлозно-паперової промисловості [1].

Особливу увагу привертають гриби роду *Hericium* S.L., які здавна знаходили своє практичне застосування в країнах Південно-Східної Азії, зокрема Китаю і Японії, деяких країн Європи та Північної Америки. Нині представник цього роду, їстівний гриб з лікарськими властивостями, *H. erinaceus* культивують в промислових масштабах. Широко відомі імуностимулюючі та антисептичні властивості цього гриба. Плодові тіла *H. erinaceus* містять ряд полісахаридів з протипухлинними властивостями, що підвищують імунітет шляхом стимулювання зростання чисельності Т-клітин і макрофагів [2]. Активні інгредієнти, виділені з міцелію *H. erinaceus* – гериценони і еринацини є стимуляторами росту і регенерації відростків нервових клітин, що дозволяє створювати ефективні препарати на основі екстракту гриба та використовувати їх з метою запобігання та поліпшення станів при хворобі Альцгеймера [3, 4]. Цікавим представником базидіоміцетів роду *Hericium* є *H. coralloides* – рідкісний реліктовий вид, занесений до Червоної Книги України та багатьох країн Європи, Америки, Азії зі статусом вразливий [5]. В складі міцелію цього гриба ідентифіковані еринацини з різноманітними цілющими властивостями [3, 6, 7].

З літературних даних відомо, що гриби роду *Hericium* є сапрофітами, викликають гниль деревини. Види *H. coralloides, H. clathroides* та *H. erinaceus* найчастіше розвиваються на деревині дуба та бука, останній – на деревині горіха, клена, платана. Ялиця є субстратом для *H. coralloides, H. alpestre, H. abietis* та *H. clathroides*. На березі найкраще росте *H. cirrhatum* [5, 8]. Отже, існує можливість утилізувати відходи вищезазначених деревних порід та інших

целюлозовмісних матеріалів шляхом вирощування на них плодових тіл грибів роду *Hericium.*

Виходячи з перспективності використання даних видів у біотехнології, зокрема для утилізації целюлозовмісних відходів, метою даної роботи було дослідження швидкості росту грибів, їх морфології, селективності окремих поживних середовищ та відбір перспективних штамів.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктами досліджень були чисті культури базидіальних грибів різного географічного походження, котрі зберігаються в Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України (ІВК). Загалом було досліджено 19 штамів шести видів грибів роду *Hericium* родини *Hericiaceae* (табл. 1). Частина використаних в нашій роботі видів *Hericium* є малодослідженими щодо їх властивостей і рідкісними для України та країн Европи [7].

Вивчення особливостей морфології та швидкості росту досліджуваних грибів проводили у чашках Петрі на п'яти стандартних і модифікованих додаванням целюлозовмісних компонентів агаризованих поживних середовищах різного складу: солодовий агар (8° по Балінгу) (СА), СА з додаванням 3 % тирси дуба (СА+Д), 5 % хвої (СА+Х), вівсяний (ВА) і пшеничний агар (ПА). Всі середовища готували і стерилізували за загальноприйнятими методиками [10].

Культури грибів, що зберігаються в колекції культур ІВК при температурі +4°С, пересівали в пробірки з СА. Ці пробірки використовували як робочі та інкубували в термостаті при температурі 26±1°С протягом 7–10 діб. Шматочками агару з міцелієм засівали підготовлені чашки Петрі з СА і інкубували протягом 10 діб. Потім сталевою стерильною трубкою вирізали диски міцелію діаметром 5 мм активно зростаючої колонії (5–10 мм від краю) і переносили їх в центр чашок Петрі з вищевказаними середовищами. Розрахунок радіальної швидкості росту проводили за описаною методикою [11].

Таблиця 1. Список досліджених видів та штамів [9]

Вид	Штам ІВК	Країна походження	Рік надходження
Hericium abietis (Weir ex Hubert) K.A. Harrison	2376	Україна	2014
Hericium alpestre Pers.	2407	Україна	2015
Hericium cirrhatum (Pers.) Nikol.	339	Україна	1988
	1609	Україна	1998
	2393	Україна	2015
Hericium clathroides (Pall.) Pers.	977	Чехія	1997
Hericium coralloides (Scop.) Pers.	1876	Україна	2008
	2332	Україна	2013
	2333	Україна	2013
Hericium erinaceus (Bull.) Pers.	963	Японія	1996
	965	Нідерланди	1996
	991	Бельгія	1997
	992	Німеччина	1997
	993	Нідерланди	1997
	1606	Китай	1998
	1706	Білорусь	2000
	1866	Ізраїль	2005
	2016	США	2010
	2239	США	2013

Результати і обговорення. Зважаючи на пошук активних деструкторів целюлозовмісних матеріалів серед досліджуваних штамів грибів, найбільший інтерес становили ті представники, які мали найвищу швидкість радіального росту на середовищах із целюлозовмісною складовою. Слід зазначити, що всі досліджені види і штами утворювали стадію телеоморфи на тих чи інших середовищах, що є надійним критерієм для їх ідентифікації в культурі. Так, штами *H. erinaceus* активно плодоносили на переважній більшості поживних

середовищ (СА, СА+Д, СА+Х), трохи гірше плодоносили штами *H. coralloides H. clathroides, H. cirrhatum, H. abietis* (рис. 1).

Рис. 1. Ріст деяких досліджуваних культур базидіоміцетів на агаризованих поживних середовищах: а – *H. cirrhatum* на СА; б – *H. coralloides* на СА; в – *H. abietis* на СА.

Серед досліджених культур найвища швидкість росту зафіксована нами у *H. cirrhatum* 339 на ВА (6,9±0,5 мм/добу). Вівсяний агар виявився селективним середовищем також і для інших штамів цього виду, але утворювані на ньому білі шовковисті міцеліальні колонії з тяжами були не щільними, натомість найщільніші повстяні колонії утворювалися на СА з додатками тирси і хвої. Штами *H. coralloides* росли із швидкістю від 1 до 5 мм/добу (рис. 2).

На всіх досліджених середовищах культури *H. erinaceus* утворювали колонії білого кольору, які з часом набували кремового або коричневого забарвлення. Реверзум колоній на всіх середовищах з часом жовтів або ставав жовто-коричневим. Загалом штами *H. erinaceus* росли з середньою швидкістю росту від 2 до 6 мм/добу залежно від штаму та поживного середовища (рис. 2). Найбільш селективним виявилося середовище СА+Х, на якому утворювалися найщільніші колонії. Штами 963, 991, 2016 і 1606, які росли з максимальною швидкістю на переважній більшості целюлозовмісних поживних середовищ, показали себе як найбільш перспективні для подальших досліджень.

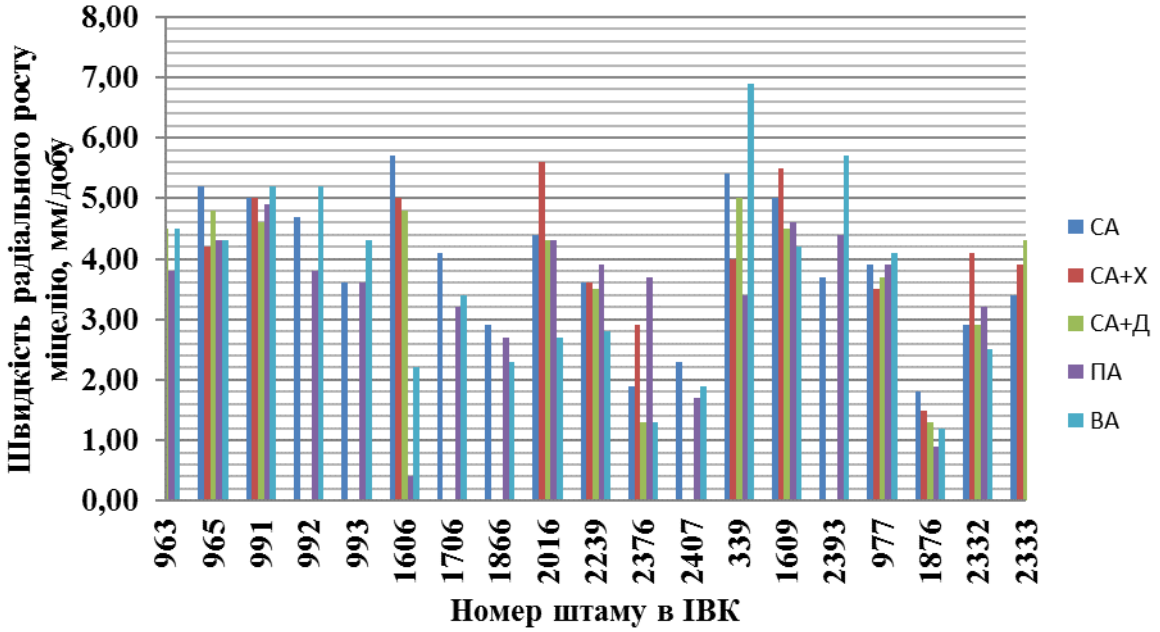


Рис. 2. Швидкість радіального росту міцелію видів *Hericium* S.L. на агаризованих живильних середовищах при 26 °С

Найменша швидкість росту відмічена у видів *H. abietis* та *H. alpestre*. Для обох видів була характерною тривала лаг-фаза, мінімум – тиждень. Краще ріс штам *H.abietis* 2376 (рис. 2): на підібраному селективному середовищі ПА швидкість росту досягала 3,7±1,0 мм/добу, але колонія була нещільна, і плодові тіла на цьому середовищі не утворювалися. Найкращим середовищем для культивування *H.alpestre* 2407 виявилося СА з максимальною швидкістю 2,3±0,3 мм/добу і мінімальною лаг-фазою у 7 діб.

Висновки. Таким чином, для кожного виду *Hericium* S.L. нами відзначені селективні середовища для культивування вегетативного міцелію, та відібрані штами, що росли з максимальною швидкістю росту на переважній більшості поживних середовищ з целюлозовмісними компонентами і легко переходили до генеративної стадії росту. Запропоновані штами є перспективними для подальших досліджень та розробки технологій їх культивування з метою використання у природоохоронних біотехнологіях.

Список літератури

1. *Куликова Н. А., Кляйн О. И., Степанова Е. В*. И др. Использование базидиальных грибов в технологиях переработки и утилизации техногенных отходов:фундаментальные и прикладные аспекты (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – т. 47, № 6. – с. 619–634.

2. *Jiang S., Wang S., Sun Y., Zhang Q.* Medicinal properties of *Hericium erinaceus* and its potential to formulate novel mushroom− based pharmaceuticals // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2014. — 98. — P. 61 – 76.

3. *Popa G., Nicilcioiu B.M., Ciuca M., Cornea C.P.* Studies concerning the in vitro cultivation of some indigenous macromycete species // Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies. — 2014. — № 18. — P. 54–59.

4. *Поединок Н.Л.* Лечебные свойства гериция шиповатого и перспективы его использования в биотехнологии и медицине // Успехи медицинской микологии. — Москва: Национальная Академия Микологии, 2005. — Т. 5. — С. 276 – 278.

5. Придюк М.П., Гелюта В.П. Герицій коралоподібний. *Hericium coralloides* (Fr.) Gray // Червона книга України. Рослинний світ / Ред. Я.П. Дідух – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – С. 813.

6. *Saito T, Aoki F., Hirai H. et al.* Erinacine E as a kappa opioid receptor agonist and its new analogs from a Basidiomycete, *Hericium ramosum* // The J. of Antibiotics. – 1998. – 51, 11. – P. 983-990.

7. *Hallenberg N. Hericium coralloides* and *H. alpestre* (Basidiomycetes) in Europe // Mycotaxon. – 1983. –VIII, 1. – P.181-189.

8. *Xiao G., Chapman B.* Cultivation of *Hericium abietis* on conifer sawdust // Canadian Journal of Botany — 1997. — №75 (7) — P. 1155–1157.

9. *Бісько Н.А., Ломберг М.Л., Митропольська Н.Ю., Михайлова О.Б.* Колекція культур шапинкових грибів (ІВК). – Київ: Альтерпрес, 2016.− 112 с.

10. *Бухало А.С.* Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. – Киев: Наук. думка, 1988. – 144 с.

11. *Ломберг М.Л., Соломко Э.Ф.* Рост культур макромицетов на агаризованных питательных средах и плотных субстратах // В кн.: «Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре». – Киев. – 2012. – 2. - С. 345 – 371.

МАТЕМАТИЧНА МОДЕЛЬ ПРОЦЕСІВ БІОЛОГІЧНОГО ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД

Тетяна Михалевська

Національний авіаційний університет, м. Київ, Україна

Людмила Береза-Кіндзерська

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. A mathematical model is in-process worked out, that allows to optimize the component structure of higher water plants with application of algorithms of the nonlinear mathematical programming that provides the maximal degree of cleaning of wastewaters of megalopolis taking into account specific cleansing ability of different higher water plants and possibilities them root system to purification of flows in a cold season.

Keywords: wastewater, biological pond, higher water plants, biological cleaning, mathematical model

Вступ. В сучасних умовах урбанізації та зростання культури людей збільшується споживання питної води та відповідно утворюється така ж кількість стічних вод, з яких більшість потрапляють у поверхневі водойми – головне джерело централізованого господарсько-питного водопостачання населення. Тому захист поверхневих водойм від антропогенного забруднення є актуальною проблемою гігієнічної науки. Дана проблема тісно пов’язана з розробкою методів як покращення якості природних вод, так і доочищення промислових та господарсько-побутових стічних вод. Існуючі методи доочищення води не забезпечують зростаючих вимог до якості вод, які потрапляють у відкриті водойми. Тому пошук методів вдосконалення біологічного доочищення стічних вод від органічних та мінеральних забруднень з одночасним зменшенням вмісту патогенної мікрофлори привертає все більшу увагу дослідників до вивчення механізмів глибокого доочищення води в біоставках.

Матеріали і методи дослідження. Матеріалами роботи служать експериментальні лабораторні дослідження у штучно створеній моделі каскаду біоставків з вищими водними рослинами (ВВР) та обчислювальні експерименти на основі математичного моделювання третинного біологічного очищення стоків. В роботі були обрані такі методи дослідження як розрахунковий метод на основі прямих вимірювань та експериментальних досліджень із застосуванням попередньої статистичної обробки отриманих даних, методи матричної алгебри і нелінійної оптимізації процесів і систем, що мають адекватний математичний опис.

Результати і обговорення. При очистці стічних вод використовують такі види вищих водних рослин (ВВР) [1-2], як комиш, очерет озерний, рогоз вузьколистий і широколистий, родест гребінчастий і курчавий, спіродела багатокорінева, елодея, водний гіацинт (ейхорнія), касатик жовтий, сусак, стрілолист звичайний, гречиха земноводна, різуха морська, уруть, хара, ірис.

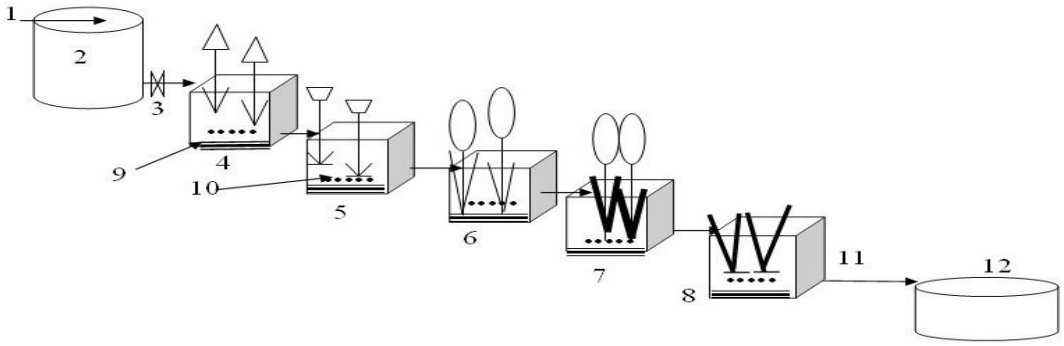


Рис.1. Технологічна схема біоставків з вищими водяними рослинами для третинного очищення стічних вод. 1) поверхнева подача біологічно очищених промислових стічних вод; 2) ємність для прийняття біологічно очищених промислових стічних вод; 3) регулюючий вентиль; 4) біоставок, засаджений очеретом звичайним; 5) біоставок, засаджений комишем озерним; 6) біоставок, засаджений рогозом вузьколистим; 7) біоставок, засаджений рогозом широколистим; 8) біоставок, засаджений лепехою болотяною; 9) дренажні труби; 10) щебінь; 11) скид доочищених стічних вод із біоставку; 12) ємність для випуску третинно очищених стічних вод.

Для більш детального вивчення процесів третинного очищення стічних вод у промислових біоставках з ВВР була використана технологична схема біоставку [3], представлена на рис. 1.

Основними вихідними даними служать БСК і ХСК стічних вод, тип виробництва, витрата води в одиницю часу й значення верхньої границі по БСК або ХСК в очищеній воді, обумовлене існуючими санітарними нормами.

Уведемо наступні позначення: X_{0j} — початкова концентрація ВВР *j-го* типу у вуглецевих одиницях; S_{0j} — концентрація *j-го* органічної речовини у вуглецевих одиницях у забрудненій воді; *в*— коефіцієнт утилізації; a_{ij} — питома швидкість росту ВВР *j-го* типу на *і-му* субстраті. Пронумеруємо органічні компоненти в порядку зростання їхньої стійкості до біологічного очищення. Тоді S_{01} — концентрація найбільш легкоочищуваної фракції, а S_{0n} — найбільш важкоочищуваної. Матрицю *A*, що характеризує інтенсивність процесів росту ВВР, запишемо в наступному вигляді:

$$A = \begin{vmatrix} a_{11} & a_{12} & \dots & a_{1n} \\ 0 & a_{22} & \dots & a_{2n} \\ 0 & 0 & \dots & a_{3n} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & \dots & a_{nn} \end{vmatrix}$$

Такий вид матриці *A* відповідає наступним біологічним властивостям: 1) для кожної органічної речовини є тип рослини, яка здатна окислювати цю сполуку; 2) рослини, що засвоюють *j-і* сполуку, здатні також утилізувати і більш легкоочищувані компоненти, тобто окислюють сполуки з номером, меншим ніж *j*. Цілий ряд різних біологічних досліджень показує, що в рослин існують регуляторні механізми, що дозволяють їм перемикати свою ферментативну систему зі споживання одного субстрату на інший. Як правило, спочатку споживається найбільше легкоочищувані сполуки, а потім — важкоочищувані. Тому в моделі приймемо суворо фіксований порядок

утилізації компонентів вихідного субстрату від першої до останньої (зростанням їхніх номерів). Оскільки за час проходження одиниці об'єму рідини через біоставок приріст біомаси ВВР становить лише кілька відсотків первісної кількості, будемо вважати, що протягом цього часу біомаса сильно не зміниться. Вираз для визначення швидкості очистки запишеться у вигляді:

$$\dot{S}_j = -\frac{1}{y} \cdot \sum_{l=j}^{m} a_{jl} x_{0l} \ ,$$

де x_{0l} — концентрація біомаси *l-го* виду ВВР на початку очищення. Для оцінки тривалості процесів у 1-й, у 2-й і наступних ступенів очищення одержуємо наступні вирази:

$$T_1 = \frac{y \cdot S_{01}}{\sum_{i=1}^{n} a_{1j} x_{0j}}; \qquad T_2 = \frac{y \cdot S_{02}}{\sum_{i=2}^{n} a_{2j} x_{0j}}; \qquad T_k = \frac{y \cdot S_{0k}}{\sum_{i=k}^{n} a_{kj} x_{0j}}.$$

Позначимо через $I = \sum_{j=1}^{n} \beta_j \cdot S_j$ інтегральний показник забруднення (наприклад, ХСК). Тоді коефіцієнт β_j чисельно дорівнює витраті кисню при окисленні однієї вуглецевої одиниці органічної речовини *j-го* типу. Для стоку конкретного виробництва можна записати: $S_{0j} = \frac{m_j}{\beta_j} \cdot I_0$, де $I_0 = \sum_{j=1}^{n} \beta_j \cdot S_{0j}$, а $\sum_{j=1}^{n} m_j = 1$.

Будемо розглядати систему лише в дискретні моменти часу. Через $\gamma(t) = I(t)/I_0$ позначимо показник ступеня очищення, досягнутої до моменту часу *t.* Взагалі ж $\gamma(t)$ у процесі очищення безупинно змінюється від 1 до 0, а моменту часу t_k (часу вилучення *k* перших компонентів) відповідає певне значення γ_k:

$$\gamma_k = \frac{\sum_{k=j+1}^{n} \beta_k \cdot S_{0k}}{I_0} = \frac{I_0 \cdot \sum_{k=j+1}^{n} m_k}{I_0} = \sum_{k=j+1}^{n} m_k \ .$$

Для досягнення вилучення γ_j; потрібен час перебування одиниці об'єму стічної рідини в у біоставку $t_j = \sum_{l=1}^{j} T_l$. Тут p_{0j} — щільність посадки ВВР *j-го* типу ($\sum_{j=1}^{n} p_{0j} = 1$), а x_0 — початкова біомаса ВВР. Для t_i маємо наступне вираження:

$$t_j = \frac{I_0}{x_0} \cdot \frac{y \cdot \sum_{l=1}^{j} \frac{m_i}{\beta_l}}{\sum_{l=1}^{j} \sum_{i=1}^{n} a_{lj} p_{0i}} = c_j \cdot \frac{I_0}{x_0}$$

Тепер можна сформулювати деяке загальне твердження. Дійсно, з вираження видно, що $\frac{t_j x_0}{I_0} = c_0 = \text{const}$.

Таким чином, множини всіх можливих режимів роботи очисного спорудження, що задовольняють останній умові, відповідає той самий ефект очищення γ_j. Цей висновок узгоджується із практикою експериментальних досліджень роботи очисних споруджень. Безпосередньо з наведених рівнянь видно, що при фіксованому забрудненні I_0 і фіксованої концентрації ВВР час очищення істотно залежить від видового складу біоставку, тобто від вектора p_0.

Позначимо через *v* - витрата води через біоставок в одиницю часу. Оскільки його об'єм безпосередньо залежить від часу *T,* необхідного для очищення заданого ступеня: $V = v \cdot T$, то зниження часу очищення *T* спричиняє зменшення об'єму очисного спорудження.

Визначимо прирости окремих видів ВВР для спорудження з ефектом ступеневого очищення γ_j:

$$\begin{cases} \Delta x_1 = a_{11} T_1 p_1 x_0 \\ \Delta x_2 = (a_{12} T_1 + a_{22} T_2) p_2 \cdot x_0 \\ \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \\ \Delta x_j = (a_{1j} T_1 + a_{2j} T_2 + \ldots + a_{jj} T_j) p_j \cdot x_0 \\ \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \\ \Delta x_n = (a_{1n} T_1 + a_{2n} T_2 + \ldots + a_{jn} T_j) p_n \cdot x_0 \end{cases}$$

Підсумовуючи всі Δx_i, для $\Delta x = \sum_{i=1}^{n} \Delta x_i$ одержимо: $\Delta x = y \cdot I_0 \cdot \hat{m}_j (1-\alpha)$.

Використовуючи попередні рівняння одержимо наступну систему алгебраїчних рівнянь для відшукання векторів рівноважних частот *p:*

$$\begin{cases} a_{11} T_1 p_1 = y \cdot \hat{m}_j \dfrac{I_0}{x_0} (1-\alpha) p_1 \\ (a_{12} T_1 + a_{22} T_2) p_2 = y \cdot \hat{m}_j \dfrac{I_0}{x_0} (1-\alpha) p_2 \\ \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \\ (a_{1j} T_1 + a_{2j} T_2 + \ldots + a_{jj} T_j) p_j = y \cdot \hat{m}_j \dfrac{I_0}{x_0} (1-\alpha) p_j \\ \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \\ (a_{1n} T_1 + a_{2n} T_2 + \ldots + a_{jn} T_j) p_n = y \cdot \hat{m}_j \dfrac{I_0}{x_0} (1-\alpha) p_n \end{cases}$$

Оскільки $T_1, T_2, \ldots T_j$ залежать від компонентів вектора $\boldsymbol{P}$, тобто остання система являє собою систему *n* нелінійних рівнянь відносно *n* невідомих $\boldsymbol{P}_1$, $\boldsymbol{P}_2$, … $\boldsymbol{P}_n$. На елементи матриці *A* можна накласти наступні умови:

$a_{ij} > a_{ij+1}$ при будь-яких *i, j*, або $a_{ij} > a_{i+1,j}$ при будь-яких *i, j*.

Ця умова відбиває той факт, що на будь-якому фіксованому субстраті вид ВВР з вузькою спеціалізацією росте і функціонує більш ефективно, ніж вид із широкою спеціалізацією. Остання нерівність вказує на те, що конкретний вид ВВР швидше розмножується на легкозасвоюваних органічних речовинах, чим на важкозасвоюваних. Тепер легко довести, що в такій системі в рівновазі не можуть одночасно існувати два види з номерами, більшими або рівними *j*. Отже, у стані рівноваги: $\boldsymbol{P}_{j+1} = \boldsymbol{P}_{j+2} = \ldots \boldsymbol{P}_n = 0$. Тепер основна система рівнянь має вигляд:

$$\boldsymbol{P}_k \sum_{i=1}^{j} a_{ik} T_i = y \cdot \hat{m}_i \frac{I_0}{x x_0} (1-\alpha) \boldsymbol{P}_k, \qquad k = \overline{1, i}.$$

Якщо припустити, що всі $\boldsymbol{P}_k \neq 0$ при $1 \le k \le j$, то одержимо систему лінійних рівнянь щодо тривалості послідовного вилучення компонент

субстрату: $A^* \cdot T = y \cdot \hat{m}_j \frac{I_0}{xx_0}(1-\alpha)$, де A^* — транспонована матриця, а $\boldsymbol{T}$— вектор, *і-я* компонента якого означає час вилучення *і-й* фракції субстрату.

Побудовану модель можна застосувати для одержання якісних висновків у порівнянні як різних технологічних схем очисних споруджень, так і різних режимів їхньої експлуатації. Одним з можливих напрямків подальшого розвитку моделі служить розрахунок залежності елементів матриці *A* від концентрації розчиненого кисню. Ця залежність може носити досить складний характер, тому що в багатьох бактеріальних клітин, як правило, існує механізм перемикання з аеробного типу життєдіяльності на анаеробний і навпаки. Тому сталість елементів матриці в ході очищення може бути реалізована лише при досить високій забезпеченості системи розчиненим киснем.

Висновки. Результати математичного моделювання та оптимізації очисних процесів було випробувано у лабораторних умовах на каскаді штучних ставків з ВВР, що виявило підвищення ступеню очистки у системах структурованих згідно оптимізаційного розрахунку [4].

Викладена модель процесу біологічного очищення якісно добре узгоджується з відомими даними про роботу реальних біоставків. Так, наприклад, багато дослідників відзначали, що основні характеристики процесу очищення залежать від відношення I_0 / x_0, а не від I_0 і x_0 окремо. Можна сподіватися, що побудована модель виявиться корисним інструментом у руках інженерів, що займаються проектуванням й експлуатацією очисних споруджень.

Список літератури

1. *Алексеев В.С.* Патогенные микроорганизмы в подземных водах систем питьевого водоснабжения // Водоснабжение и сан. техника. – 2003. - № 11. – С. 5-9.

2. *Гаркавий С.І., Кравець В.В., Попенко В.М., Грищенко Н.В., Гузь В.Г.* Інтенсифікація процесів доочищення та знезараження стічних вод за допомогою вищих водяних рослин // Гігієна населених місць. – 2002. – Випуск 39. – С. 80-86.

3. *Кравець В.В., Шаповал О.Є., Попенко В.М. та інші.* Доочищення та безреагентне знезаражування стічних вод у біоставку, засадженому вищими водяними рослинами // Довкілля та здоров'я. – 2005. - № 2(33). – С. 13-18.

4. *Михалевська Т.В. та інші.* Патент Українина корисну модель - Спосіб очистки води від органічних забруднювачів №59144. Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25.05.2011р.

ІНТЕНСИФІКАЦІЯ БІОСИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 НА ВІДПРАЦЬОВАНІЙ СОНЯШНИКОВІЙ ОЛІЇ

Ірина Павлюковець

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The possibility of replacing refined sunflower oil on waste after frying meat and potato in the cultivation medium of surfactants producer *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 was shown. The surfactants concentration increased in 1.5−3 times (up to 6,3−7,9 g/l) after adding precursors of biosynthesis (glucose and potassium salts of fumarate and citrate) into the medium with 2% of oil compared with those without precursors introduction.

Keywords: *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, surfactants, sunflower oil, glucose, organic acids

Вступ. Останніми роками спостерігається значний інтерес до екологічно безпечних поверхнево-активних речовин (ПАР) мікробного походження. Завдяки своїй поліфункціональності вони є перспективними для застосуваннія у різних галузях харчової промисловості, медицині та агропромисловому комплексі [1]. Враховуючи, що мікробні ПАР є біодеградабельними, нетоксичними і не шкідливими, на відміну від синтетичних, їх використання не наносить шкоди довкіллю [2].

Зазначимо, що в Україні викиди відпрацьованої соняшникової олії в навколишнє середовище не регламентуються, а одним з шляхів утилізації цього токсичного відходу є використання його як субстрату в біотехнологічних процесах. У зв'язку з викладеним вище мета даної роботи – дослідити можливість використання відпрацьованої соняшникової олії для синтезу ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241.

Матеріали і методи. Об'єктом досліджень був штам *Acinetobacter calcoaceticus* К-4, зареєстрований у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного.

Штам *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 вирощували в рідкому поживному середовищі в яке додатково вносили дріжджовий автолізат –0,5 % (об'ємна частка) і розчин мікроелементів − 0,1 % (об'ємна частка). Концентрація сечовини становила 0,35-1,0 г/л.

Як джерело вуглецю використовували рафіновану соняшникову олію «Стожар» (компанія Кернел, Київ), а також відпрацьовану після смаження картоплі та м'яса (мережа ресторанів швидкого харчування Mcdonald's Київ) олію у концентрації 2-6 % (об`ємна частка).

В одному з варіантів в середовище додатково вносили глюкозу (0,1 %, масова частка) у вигляді 40 % розчину, а також цитрат натрію (0,01 і 0,1 %) і фумарат натрію (0,01 і 0,1 %) у вигляді 10%-х розчинів. Внесення попередників здійснювали на початку процесу культивування та в кінці експоненційної фази росту продуцента.

Як посівний матеріал використовували культуру з експоненційної фази росту, вирощену на мелясі (1 %, масова частка за вуглеводами), рафінованій та відпрацьованій соняшниковій олії (0,5 % об`ємна частка). Кількість посівного матеріалу (10^4–10^5 КУО/мл) становила 10 % від об'єму поживного середовища.

Культивування здійснювали в колбах об'ємом 750 мл з 100 мл середовища на качалках (320 об/хв) при 28−30 °С упродовж 120 год.

Здатність до синтезу ПАР оцінювали за такими показниками: умовна концентрація ПАР (ПАР*, безрозмірна величина), а також кількість синтезованих ПАР (г/л), які визначали як описано раніше [3].

Усі досліди проводили в 3 повторах, кількість паралельних визначень в експериментах становила 3–5. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали як описано раніше [3]. Відмінності середніх показників вважали достовірними на рівні значимості $p<0,05$.

Результати і обговорення. На **першому етапі** встановлювали здатність до синтезу ПАР штамом ІМВ В-7241 на рафінованій соняшниковій олії (табл. 1).

Результати досліджень показали, що максимальна концентрація ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 (5,2 г/л) спостерігалася за концентрації соняшникової олії в середовищі 2%. Подальше збільшення концентрації субстрату до 4 і 5% супроводжувалося зниженням показників синтезу (як показника ПАР*, так і концентрації ПАР).

Таблиця 1. Вплив концентрації рафінованої соняшникової олії на синтез ПАР A. calcoaceticus IMB B-7241

Концентрація соняшникової олії, %	*Умовна концентрація ПАР (ПАР*)*	*Концентрація ПАР, г/л*
2	9,1±0,45	5,2±0,26
3	8,7±0,43	5,1±0,25
4	7,7±0,38	4,9±0,24
5	7,3±0,36	3,7±0,18

Примітка. Концентрація сечовини в середовищі культивування 0,35 г/л. Інокулят вирощений на мелясі

Одним з факторів, що визначають ефективність процесів мікробного синтезу вторинних метаболітів, є співвідношення C/N в середовищі культивування продуцентів [3]. У даній роботі, підвищуючи до 5 % концентрацію соняшникової олії в середовищі культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, ми не змінювали вміст у ній джерела азоту.

Тому в наступних експериментах концентрація сечовини була збільшена в 2−3 рази порівняно з їх вмістом у базовому середовищі (табл. 2).

Підвищення вмісту сечовини в середовищі культивування супроводжувалося збільшенням кількості синтезованих ПАР. Максимальна

концентрація ПАР (7,3 г/л) досягалася на середовищі, що містило 1,0 г/л сечовини і 4% соняшникової олії.

Таблиця 2. Синтез ПАР штамом ІМВ В-7241 на середовищі з різною концентрацією сечовини і рафінованої олії

Концентрація соняшникової олії, %	Концентрація $(NH_2)_2CO$, (г/л)	Концентрація ПАР, (г/л)
4	0,35	4,9±0,24
	0,7	6,3±0,31
	1,0	7,3±0,36
5	0,35	3,7±0,18
	0,7	4,7±0,24
	1,0	5,7±0,28

Примітка. Інокулят вирощений на мелясі.

Другий етап – встановлення можливості заміни рафінованої соняшникової олії на пересмажену (відпрацьовану) для синтезу ПАР штамом ІМВ В-7241. У даних дослідженнях концентрація субстрату становила 4 %, а сечовини – 1,0 г/л.

Встановлено, що синтез ПАР на відпрацьованій олії залежав від природи джерела вуглецю у середовищі для одержання інокуляту та типу олії. Так, використання посівного матеріалу, вирощеного на мелясі, супроводжувалося зниженням в 1,7-2,7 разів кількості синтезованих на відпрацьованій соняшниковій олії поверхнево-активних речовин порівняно з показниками на очищеному субстраті (див. табл. 2 і 3).

Експерименти показали, що відпрацьована після смаження м’яса соняшникова олія є придатнішим субстратом для синтезу ПАР штамом ІМВ В-7241, ніж після смаження картоплі. Так, незалежно від природи джерела вуглецю у середовищі для одержання інокуляту (меляса, рафінована чи відповідна відпрацьована олія) концентрація ПАР на

відпрацьованій після смаження м'яса олії була вищою, ніж аналогічні показники за умов росту бактерій на відпрацьованій після смаження картоплі олії.

Таблиця 3. Синтез ПАР A. calcoaceticus IMB B-7241 на соняшниковій олії (4 %) залежно від якості інокуляту

Джерело вуглецю у середовищі для отримання інокуляту	Олія для біосинтезу ПАР	ПАР, г/л
Меляса	після смаження картоплі	1,5±0,08
	після смаження м'яса	2,8±0,14
Рафінована соняшникова олія	після смаження картоплі	3,9±0,19
	після смаження м'яса	4,3±0,21
Відпрацьована після смаження картоплі олія	після смаження картоплі	5,0±0,25
Відпрацьована після смаження м'яса олія	після смаження м'яса	6,9±0,42

Третій етап – вплив екзогенних попередників на синтез ПАР за умов росту *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на відпрацьованій олії.

Враховуючи хімічний склад ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 (комплекс нейтральних, аміно- та гліколіпідів) і той факт, що основним компонентом комплексу є трегалозоміколати [3], як один з попередників біосинтезу використовували глюкозу (табл. 4).

Дослідження показали, що на відміну від *R. erythropolis* ЕК-1 [3], показники синтезу ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за внесення глюкози в середовище з 4 % олії не підвищувались порівняно із такими на середовищі без попередника. Однією з причин зниження синтезу ПАР може бути наявність інгібіторів у відпрацьованій соняшниковій олії, концентрація якої в середовищі достатньо висока (4 %).

Встановлено, що після додавання 0,1% глюкози на початку процесу культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 кількість синтезованих ПАР підвищувалась в 3,4 і 1,5 рази на середовищі з олією після смаження картоплі і м'яса відповідно, у порівнянні з вирощуванням штаму IMB B-7241 на середовищі без глюкози (табл. 4).

Таблиця 4. Вплив екзогенної глюкози на біосинтез ПАР за умов росту A. calcoaceticus IMB B-7241 на відпрацьованій олії

Олія після смаження	Концентрація олії в середовищі, %	Наявність глюкози	ПАР, г/л
Картоплі	2	-	1,8±0,09
		+	6,1±0,30
	4	-	6,6±0,33
		+	6,4±0,32
М’яса	2	-	1,2±0,06
		+	1,8±0,09
	4	-	7,3±0,36
		+	7,2±0,36

Відомо, що фумарат є попередником глюконеогенезу, а цитрат – регулятором синтезу ліпідів [3]. За одночасної присутності фумарату (0,01 %) і цитрату (0,01 %) у середовищі з очищеним гліцерином спостерігали збільшення на 40–100 % кількості синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 ПАР [6].

Проте наші експерименти показали, що внесення у середовище культивування штаму IMB B-7241 з 2 і 4 % олії фумарату натрію та цитрату натрію (0,01 і 0,1 %) як окремо, так і в суміші, не супроводжувалось підвищенням концентрації ПАР.

Раніше [6] було встановлено, що катіони натрію є інгібіторами активності ферментів біосинтезу поверхнево-активних гліко- і аміноліпідів у *A. calcoaceticus* IMB B-7241. Тому в наступних експериментах замість натрієвих органічних кислот використовували калієві (фумарат і цитрат калію). Відомо, що органічні кислоти краще транспортуються в клітини *A. calcoaceticus* IMB B-7241 при нейтральному значені pH. Тому надалі перед внесенням попередників pH культуральної рідини доводили до нейтрального значення стерильним розчином КОН [6].

Експерименти показали, що на відміну від культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на етанолі [6], за умов росту на соняшниковій олії оптимальною концентрацією органічних кислот виявилась 0,1% (табл. 5). Так, найвища концентрація ПАР (5,9–7,3 г/л) спостерігалась за внесення у середовище з соняшниковою олією фумарату та суміші фумарату з цитратом.

Таблиця 5. Синтез ПАР A. calcoaceticus IMB B-7241 на рафінованій соняшниковій олії (2%) за присутності органічних кислот

Органічна кислота	Концентрація попередника, %	pH	Концентрація ПАР, г/л
Фумарат	0,01	7,2	4,5±0,22
	0,1	7,6	5,9±0,29
Цитрат	0,01	7,6	2,6±0,13
	0,1	5,3	3,5±0,17
Фумарат + Цитрат	0,01+0,01	7,6	3,5±0,17
	0,1+0,1	7,9	7,3±0,36
Без органічних кислот (контроль)	-	5,1	4,9±0,24

Примітка. Посівний матеріал на рафінованій соняшниковій олії. Органічні кислоти вносили на початку стаціонарної фази росту

Висновки. Заміна рафінованої соняшникової олії у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на відпрацьовану дає змогу утилізувати токсичні промислові відходи і знизити собівартість цільового продукту.

Список літератури

1. *Campos J.M., Stamford T.L., Sarubbo L.A., de Luna J.M., Rufino R.D., Banat I.M.* Microbial biosurfactants as additives for food industries // Biotechnol. Prog. – 2013. – V. 29. № 5. – P. 1097–1108. doi: 10.1002/btpr.1796.

2. *Kügler J.H., Le Roes-Hill M., Syldatk C., Hausmann R.* Surfactants tailored by the class *Actinobacteria* // Front. Microbiol. – 2015. – doi: 10.3389/fmicb.2015.00212.

3. *Подгорский В.С., Иутинская Г.О., Пирог Т.П* Интенсификация технологий микробного синтеза // Киев: Наук. Думка. – 2010. – 327 с.

4. *Пирог Т. П., Антонюк С.И., Карпенко Е. В., Шевчук Т. А.* Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 на синтез поверхностно-активных веществ // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – 45, № 3. – С. 304–310.

5. *Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Шулякова М.О.*. Вплив органічних кислот на синтез поверхнево-активних речовин штамом *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 у середовищі з гліцерином // Біотехнологія. – 2012 – Т.5, №4. – с. 88–95.

6. *Пирог Т.П., Антонюк С.И., Конон А.Д., Шевчук Т.А., Павфенюк С.А.* Влияние pH на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 // Мікробіол. журн. – 2013. – Т.73, №3. – с. 32–40.

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НАГРОМАДЖУВАЛЬНОЇ КУЛЬТУРИ ЦЕЛЮЛОЛІТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Ірина Пащенко, Галина Палюх, Вероніка Червецова, Наталія Заярнюк, Ольга Швед, Володимир Новіков

Національний університет "Львівська політехніка", м. Львів, Україна

Annotation: Enriched cultures of aerobic cellulose-digesting microorganisms using samples of natural origin were obtained. Strains of bacteria and fungi were isolated, their morphological characteristics were determined. The ability of these microorganisms metabolized of different carbon substrates was studied.

Keywords: cellulose-digesting microorganisms, enriched cultures.

Вступ. Актуальність обраної теми зумовлена наявністю існуючих перед сучасною Україною технологічних та екологічних проблем. Одержання глюкози із целюлозовмісних субстратів, оброблених целюлазою, становить значний практичний інтерес [1]. Відходи сільського господарства (солома, кукурудзяні качани, соняшникове лушпиння тощо), деревообробної та целюлозно-паперової промисловості (гілки, тирса, кора дерев, сульфітні лужні золи), комунальні відходи, що на 40-50 % складаються з рослинної біомаси, та макулатура можуть бути субстратами в процесі ферментації з метою одержання біоетанолу та інших технологічно важливих продуктів [2] Виділення целюлолітичних бактерій та грибів з високою активністю та одержання ферментних препаратів на їх основі є актуальним завданням для мікробіологів та біотехнологів та розвитку целюлозно-паперової промисловості, сільського господарства, переробки промислових та побутових відходів, вирішення енергетичних проблем тощо.

Мета дослідження. Вивчення одержаних целюлолітичних бактерій та грибів нбагатих на залишки целюлози субстратів, а саме ґрунтів різного походження та деревини, яка відрізнялась за ступенем природної деградації, а

також одержання нагромаджувальних культур целюлолітичних мікроорганізмів та оптимізація умов їх культивування.

Матеріали і методи дослідження. Для одержання нагромаджувальних культур аеробних целюлолітичних мікроорганізмів застосовували ємності з широкими горлом на 250 мл, в яких замінили класичні ватні корки загальноприйнятими на сучасний момент в європейській мікробіологічній практиці кришками з фольги. В ємності вносили по 45 мл середовища Хатчинсона-Клейтона, в якості субстрату поміщали складчасті фільтри з фільтрувального паперу (див. рис.1) згідно з відомою методикою [3]. Досліджувані взірці культивували при температурі 28˚С 7 діб для отримання колоній, які розкладають фільтрувальний папір. Через зазначений час колонії, навколо яких спостерігалось найбільше руйнування паперового фільтру відокремлювали і ресуспендували в стерильній водопровідній воді. Суспензію в кількості 0,1 мл наносили на агаризоване середовище Хатчинсона-Клейтона, після чого накривали стерильним диском фільтрувального паперу (діаметр 9 см) і ставили в термостат при температурі 28˚С. Через 7 діб відзначали зони просвітлювання фільтрувального паперу (див. рис. 2).

Рис. 1. Накопичувальні культури целюлолітичних мікроорганізмів на рідкому поживному середовищі

Рис. 2. Накопичуальні культури целюлолітичних мікроорганізмів на твердому поживному середовищі

Для дослідження здатності засвоювати карбоновмісні субстрати в стерильні пробірки вносили різні джерела карбону та середовище Хатчинсона-Клейтона у співвідношенні 1:1, після чого засівали суспензією вибраного штаму в кількості 0,1 мл.

Вивчення морфологічних ознак та фотографування фіксованих фарбованих препаратів досліджуваних бактерій та живих препаратів досліджуваних міцеліальних грибів здійснювали із застосуванням світлопольного тринокулярного мікроскопа MBL2100 («Kruss», Німеччина) з подальшою комп'ютерною обробкою фотографій.

Результати та обговорення. Результати спостережень по використанню різних природних взірців для одержання нагромаджувальних культур целюлолітичних мікроорганізмів через 7 діб експерименту подано в табл. 1.

В результаті проведення попередніх досліджень було виділено 9 штамів бактерій та 8 штамів грибів, які здатні розкладати целюлозу. З них для подальших експериментів відібрано 2 штами бактерій (2в та 4б) (рис. 3) та 2 штами грибів (2а та 8д) (рис.4), які дослідили на здатність утилізувати різні джерела карбонового живлення, а саме: КМЦ (карбоксиметилцелюлоза), тирса, стружка, подрібнений фільтрувальний папір, вата, сіно.

Таблиця 1. Результати спостережень одержання нагромаджувальних культур аеробних целюлолітичних мікроорганізмів

Досліджувані зразки	Ємність на 250 мл	Чашка Петрі
1	2	3
Грунт з вазонока	Пігменти жовтого кольору на фільтрувальному папері, колонії, пігментовані в зелений та сірий кольори.	Зони проріджения фільтрувального паперу, виділили колонії, забарвлені в рожевий (штам 1б) та жовтий (штам 1в) колір.

Продовження табл. 1

1	2	3
Грунт «Флора»	Колонії, пігментовані в чорний, сірий та зелений кольори, мутний жовтий розчин.	Зони проріджения фільтрувального паперу, виділили колонії, забарвлені в жовтий колір(штам 2в)
Грунт (с. Оброшино)	Колонії, забарвлені в сіро-зелений та жовтий колір, розчин прозорий.	Фільтрувальний папір проріділся навколо грудочок ґрунту, є колонії яскраво жовтого, оранжевого, чорного та ледь рожевого кольорів. Виділили штам 3в з проріджeного фільтрувального паперу.
Грунт (м. Рава-Руська)	Мутний розчин, колонії, пігментовані в жовтий зелений колір. Виділили штам 4б з суспензії.	Зони проріджения фільтрувального паперу, колонії, пігментовані в жовтий та рожевий колір.
Згнивише дерево (м. Львів, Цитадель)	Мутний розчин, жовтого кольору, колонії, пігментовані в сірий, зелений та білий колір.	Зони проріджения фільтрувального паперу, колонії пігментовані в жовтий колір (виділили штам 5в).
гнивише дерево 2 (м. Львів, Цитадель)	Прозорий розчин (виділили штам 6б), колонії фільтрувального паперу пігментовані в жовтий та сіро-зелений колір.	Зони проріджения фільтрувального паперу, колонії пігментовані в жовтий колір.
Грунт з-під однолітніх рослин (м. Львів, Цитадель)	Прозорий розчин, на складках конуса колонії жовтого кольору (виділили штам 7а)	Зони проріджения фільтрувального паперу, колонії пігментовані в жовтий та червоний колір.
Солома (Турківський район)	Прозорий розчин, колонії забарвлені в жовтий, рожевий (виділили штам 8а) та зелений колір.	Досліджуваний матеріал обріс цвіллю білого і чорного кольору, є зони проріджения фільтрувального паперу.

З’ясувалось, що найлегшим для біотрансформації джерелом карбону для виділених штамів бактерій та грибів виявилась КМЦ. Розрідження цього субстрату спостерігалось вже через 24-48 годин після засіву культур. Результати дослідження здатності відібраних штамів утилізувати целюлозу на різних джерелах карбону подано в табл. 2.

Рис. 3. Нагромаджувальні культури целюлолітичних бактерій на рідкому поживному середовищі

Рис. 4. Нагромаджувальні культури целюлолітичних грибів на твердому поживному середовищі

Таблиця 2. Результати дослідження здатності відібраних штамів утилізувати целюлозу

Культура/середовище		КМЦ	тирса	стружка	солома	папір	вата
1		2	3	4	5	6	7
2в	4 доба	Повне розрідження субстрату	Без змін	Без змін	Без змін	Без змін	Поверхня субстрату жовта
	6 доба	Повне розрідження субстрату, є біомаса	Наліт на краю середовища	Без змін	Мутний розчин	Без змін	Поверхня субстрату жовта
	15 доба	Повне розрідження субстрату, багато біомаси	Початок розкладу целюлози	Піна при струшуванні	Мутний розчин	Окремі частинки пожовтіли	Поверхня субстрату жовта

Продовження табл. 2

1		2	3	4	5	6	7
4б	4 доба	Повне розрідження субстрату	Без змін	Без змін	Бродіння, мутний розчин	Без змін	Без змін
	6 доба	Повне розрідження субстрату, є біомаса	Зелені колонії	Без змін	Бродіння, мутний розчин	Без змін	Без змін
	15 доба	Повне розрідження субстрату, багато біомаси	Зелені колонії	Без змін	Бродіння, мутний розчин	Без змін	Є біомаса
2а	4 доба	Неповне розрідження субстрату, є міцелій	Без змін	Без змін	Спостерігали бродіння, мутність	Без змін	Поверхня субстрату жовта
	6 доба	Неповне розрідження субстрату, є міцелій	Субстрат потемнів	Без змін	Спостерігали бродіння, мутність	Без змін	Поверхня субстрату жовта
	15 доба	Повне розрідження субстрату, є міцелій	Субстрат потемнів	Без змін	Спостерігали бродіння, мутність	Без змін	Поверхня субстрату жовта
8д	4 доба	Неповне розрідження субстрату, є міцелій	Без змін	Без змін	Без змін	Без змін	Без змін
	6 доба	Розрідження субстрату, є міцелій	Без змін	Без змін	Без змін	Без змін	Без змін
	15 доба	Розрідження субстрату, є міцелій	Сіро-зелені колонії	Піна при струшуванні	Без змін	Зелені колонії	Зелене тіло

Виходячи з результатів досліду та враховуючи літературні дані про застосування КМЦ та Na-КМЦ для визначення активності целюлаз, ми вирішили провести подальший скринінг активних целюлолітичних бактерій та грибів саме на цьому субстраті (рис. 5, 6).

Рис. 5. Культивування штаму бактерій 2в на різних карбоновмісних субстратах

Рис. 6. Культивування штаму грибів 8д на різних карбоновмісних субстратах

Для попередньої ідентифікації виділених культур целюлолітичних бактерій та виявлення їх найбільш характерних морфологічних ознак проводили виготовлення мікроскопічних препаратів. З колоній, які, на нашу, думку мали бактеріальне походження, виготовляли фіксовані препарати згідно загальноприйнятої методики із застосуванням фуксину основного в якості барвника. Виявилось, що відібрані штами бактерій мали форму коротких паличок, довгих паличок, іноді зібраних в ланцюжки та містили сферичні структури, які профарбовувались гірше, ніж вегетативні клітини (див. рис. 7, 8).

Для попередньої ідентифікації виділених культур целюлолітичних грибів та виявлення їх найбільш характерних морфологічних ознак проводили виготовлення мікроскопічних препаратів. З колоній мікроміцетів, які мали

візуально ідентифікований повітряний міцелій, виготовляли препарати «роздавлена крапля», а також фіксовані фарбовані препарати відповідно до загальноприйнятих методик. Спостерігали наявність конідій, довгих ниткоподібних структур, а також товстих волокон, що часто переплітаються та розділяються. Виявили, що культура не була однорідною (див. рис. 9, 10).

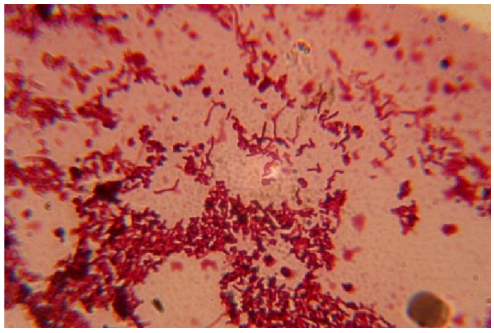


Рис. 7. Фіксований забарвлений препарат штаму 2в

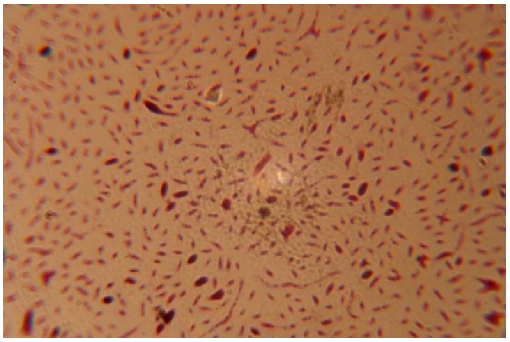


Рис. 8. Фіксований забарвлений препарат штаму 4б

Виділені культури целюлолітичних бактерій представлені неоднорідними за морфологічними ознаками формами, дослідження в цьому напрями продовжуються для здійснення селекції штамів бактерій та грибів.

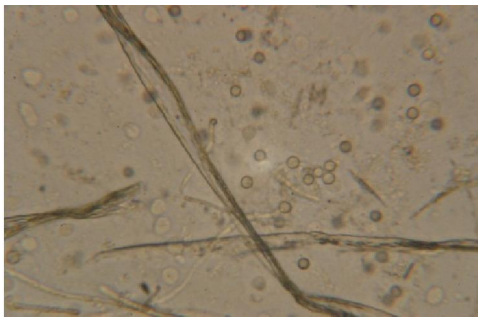


Рис. 9. Препарат «роздавлена крапля» штаму 2а

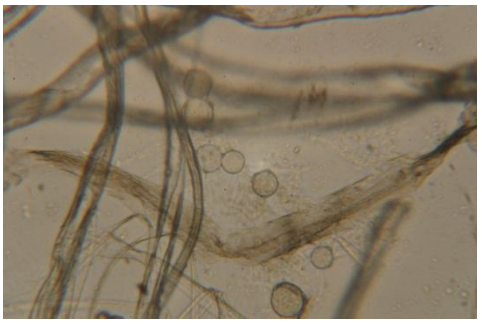


Рис. 10. Препарат «роздавлена крапля» штаму 8д

Висновки. Одержані нагромаджувальні культури аеробних целюлолітичних мікроорганізмів шляхом проведення гідролізу целюлози в карбоновмісних субстратах природного походження, а саме ґрунтів різного

походження та деревини, яка відрізнялась за ступенем природної деградації. Виділено окремі штами целюлолітичних бактерій та грибів та проведено оптимізацію умов їх культивування.

Список літератури

1 *Билай В.И., Билай Т.И., Мусич Е.Г.* Трансформация целюлози грибами. – Киев: Наукова думка, 1982. -296с.

2. *А.Сибірний.* Біопаливний етанол з лігноцелюлози (рослинної біомаси): досягнення, проблеми, перспективи. Вісн.НАН України, 2006, № 3.

3. *Й. Сэги* Методы почвенной микробиологии. – Москва: Колос, 1983. – 295 с.

ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241, *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMB AC-5017 И *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405 НА ДЕСТРУКЦИЮ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ

Татьяна Пирог, Светлана Антонюк

Национальный университет пищевых технологий, Киев,Украина

Abstract. It was shown that the degree of oil degradation in water (2.6 □ 6.0 g/L) and soil (21.4 g/kg) in 30 days was 80 □ 94% after treatment with the cultural liquid containing surfactants *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405. Stimulating effect Cu^{2+} (0.01−1.0 mM) on destruction of oil and toxic metals (Cd^{2+}, Pb^{2+}, 0.01−0.1 mM) complex in soil and water, treated with a surfactants was established. In the presence of surfactants and copper cations (0.01 mM), the degree of oil degradation in water (3.0 g/l) after 20 days was 20−25 % higher than in similar conditions without Cu^{2+}.

***Keywords*:** intensification of oil degradation, microbial surfactants

Введение. На сегодняшний день нефть является основным источником энергии во всем мире, но вместе с тем повышается и вероятность попадания этого ксенобиотика в окружающую среду [1]. Перспективными для ликвидации нефтяных загрязнений являются биологические методы, основанные на непосредственном внесении нефтеокисляющих микроорганизмов (биоаугментация) или использовании различных соединений, стимулирующих природную (автохтонную) микробиоту (биостимуляция), в том числе и микробных поверхностно-активных веществ (ПАВ) [2].

Ранее мы сообщали о выделении нефтеокислящих бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* К-4, *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1, *Nocardia vaccinii* К-8 и использовании иммобилизованных на керамзите клеток штаммов ЭК-1 и К-8 для очистки воды от нефти (100 мг/л) [3]. В дальнейших исследованиях была

установлена способность *A. calcoaceticus* К-4 (IMB B-7241), *R.erythropolis* ЭК-1 (IMB Ac-5017) и *N. vaccinii* К-8 (IMB B-7405) к синтезу поверхностно-активных веществ [4].

Цель работы – исследовать влияние ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 на эффективность деструкции нефти в воде и почве, а также комплексных с тяжелыми металлами нефтяных загрязнений.

Материалы и методы. *R. erythropolis* IMB Ac-5017 выращивали вжидкой минеральной среде с этанолом, *н*-гексадеканом и отработанным (пережаренным) подсолнечным маслом в концентрации 2 об. %, *A. calcoaceticus* IMB B-7241 – н-гексадеканом и этанолом (2 об. %), *N. vaccinii* К-8 – глицерином (1.0 об. %).

В качестве препаратов ПАВ использовали постферментационную культуральную жидкость и супернатант.

Моделирование зазрязненной нефтью и катионами металлов почвы. В пластиковую емкость вносили 1 кг почвы, 25 мл нефти, препараты ПАВ (100–300 мл), 0.01 % диаммонийфосфата в качестве источника биогенных элементов и перемешевали. При комплексном загрязнении нефтью и катионами металлов в почву вносили (отдельно и в комбинациях) 0,01 мМ Cu^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+} в виде 1М растворов солей $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $CdSO_4 \cdot 8H_2O$ и $Pb(CH_3COOH)_4$ соответственно.

Моделирование загрязненных нефтью и металлами водоемов. В пластиковую емкость вносили 2 л бюветной воды, на поверхность которой наносили 6−15 мл нефти, после чего добавляли препараты ПАВ в концентрации 5−15 об. %, а также 0,01–1,0 мМ Cu^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+} отдельно и в различных комбинациях. В качестве источника биогенных элементов использовали диаммонийфосфат (0.01%).

Определение содержания нефти. Количество нефти определяли весовым методом. Для этого осуществляли трехкратную экстракцию нефти гексаном (соотношение 1:1).

Результаты и обсуждение. Эксперименты показали, что в присутствии препаратов ПАВ в виде культуральной жидкости и супернатанта степень деструкции нефти в воде (2,6−6,0 г/л) через 30 сут составляла 80−94 %. Максимальное разложение нефти (92−94 %) наблюдалось при использовании невысоких (5 %) препаратов ПАВ всех исследуемых штаммов в виде культуральной жидкости. Дальнейшие исследования показали, что общее количество микробиоты воды к концу эксперимента увеличивалось на один–два порядка. Такие результаты могут свидетельствовать о том, что основным механизмом, обеспечивающим активную деструкцию нефти в воде в присутствии препаратов ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405, является активация ими природной нефтеокисляющей микробиоты воды.

Исследование разложения нефти в почве после обработки культуральной жидкостью *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB AC-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 (300 мл/ кг почвы) показало, что степень деструкции составляла 82−84 %.

Тяжелые металлы являются одними из основных загрязнителей экосистем [5], они отрицательно влияют на микроорганизмы, нарушая таким образом биологический баланс биосферы. Данные по деструкции нефти в воде, содержащей различные концентрации катионов меди, после обработки культуральной жидкостью, содержащей ПАВ, представлены в табл. 1. Через 20 сут деградация нефти была существенно выше в вариантах, содержащих Cu^{2+}.

На следующем этапе исследовали возможность применения препарата ПАВ штамма IMB Ac-5017 в виде культуральной жидкости для очистки воды, содержащей нефть и катионы нескольких токсичных металлов. Установлено, что степень деструкции нефти через 20 сут была максимальной в вариантах с Cu^{2+} (55–75 %), в то время как в присутсвии Cd^{2+} и Pb^{2+} продеградировало всего 30 % нефти. Аналогичные результаты были получены при повышении концентрации каждого из катионов металлов в смеси с 0.1 до до 0.1 мМ.

Таблица 1. Влияние катионов меди на деструкцию нефти в воде в присутствии культуральной жидкости A. calcoaceticus IMB B-7241, R. erythropolis IMB Ac-5017 и N. vaccinii IMB B-7405

Концентрация Cu^{2+} в воде, мМ	Деструкция нефти (%) после обработки препаратами ПАВ штамма		
	IMB B-7241	IMB AC-5017	IMB B-7405
0	75,7	73,7	74,0
0,01	98,2	95,3	98,6
0,05	98,0	80,5	98,4
0,1	95,4	Н.о.	98,4
0,5	90,8	Н.о.	89,0
1,0	87,6	Н.о.	Н.о.

Примечание: Н.о. – не определяли**.** Начальная концентрация нефти 3 г/л.

Исследования деградации нефти в почве, загрязненной несколькими токсичными металлами, после обработки препаратами поверхностно-активных веществ штамма IMB Ac-5017 показали, что максимальная степень деструкции наблюдалась в присутствии Cu^{2+} и ПАВ (табл. 2).

Таблица 2. Деструкция нефти в почве, содержащей несколько токсичных металлов, в присутствии культуральной жидкости R. erythropolis IMB Ac-5017

Катионы металлов в загрязненной нефтью почве	Деструкция нефти (%) при обработке культуральной жидкостью после выращивания на	
	н-гексадекане	Отработанном подсолнечном масле
–	77,1	71,9
Cu^{2+}+ Cd^{2+}+Pb^{2+}	88,5	67,5
Cu^{2+}+ Cd^{2+}	93,6	90,3
Cu^{2+}+Pb^{2+}	99,0	92,2
Cd^{2+}+Pb^{2+}	45,3	33,6
Cu^{2+}	96,1	94,7

Отметим, что деструкция нефти в почве после обработки культуральной жидкостью, полученной после культивирования *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на н-гексадекане, была выше, чем при использовании культуральной жидкости после выращивания бактерий на отработанном подсолнечном масле. Это может быть обусловлено тем, что после культивирования на гексадекане клетки штамма IMB Ac-5017 уже адаптированы к ассимиляции углеводородов нефти.

Следующий этап был посвящен установлению возможных механизмов повышения деструкции нефти в присутствии препаратов ПАВ исследуемых штаммов и катионов меди.

Ранее нами было установлено, что окисление н-гексадекана у штамма IMB Ac-5017, как и у большинства представителей рода *Rhodococcus,* осуществляется трехкомпонентным алкангидроксилазным комплексом [6].

Из литературы известно, что активаторами монооксигеназ (в частности, метанмонооксигеназ) являются катионы меди [7]. В связи с этим предположили, что повышение степени деструкции нефти исследуемыми препаратами ПАВ в присутствии меди может быть обусловлено активирующим влиянием Cu^{2+} на активность алкангидроксилаз – первых ферментов катаболизма углеводородов. Дальнейшие энзиматические анализы показали, что в присутствии 0.05 и 0.1 мМ Cu^{2+}активность алкангидроксилаз штаммов IMB AC-5017, IMB B-7241 и IMB B-7405 повышалась в 1.5−3 раза.

Другим механизмом, лежащим в основе достаточно высокой эффективности деструкции нефти препаратами ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 в присутствии катионов металлов, может быть проявление защитных функций ПАВ. Из литературы известно, що микробные ПАВ характеризуются способностью к образованию стабильных комплексов с тяжелыми токсичными, благодаря чему защищают клетки продуцента от их действия, а также могут использоваться в природоохранных технологиях для удаления металлов [8, 9].

Наши эксперименты показали, что удаление ПАВ сопровождалось гибелью всех клеток *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 в присутствии Cu^{2+}, Cd^{2+} и Pb^{2+} (0,05−0,5 мМ), в то время как при наличии ПАВ в аналогичных условиях выживало до 60−70 % клеток. Дальнейшие исследования показали, что ПАВ иследуемых штаммов проявляют защитные функции и по отношению к нативной микробиоте воды.

Выводы. В результате проведенной работы показана высокая эффективность применения невысоких концентраций препаратов ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 в виде культуральной жидкости для очистки от нефти воды (2,6−6,0 г/л) и почвы (21,4 г/кг), в том числе и присутствии тяжелых токсичних металлов. Интенсификация деструкции нефтяных загрязнений в присутствии ПАВ обусловлена стимуляцией аборигенной микробиоты в результате солюбилизации нефти, активацией катионами меди алкангидроксилаз как штаммов-продуцентов ПАВ, так и природной нефтеокисляющей микробиоты, а также защитными функциями ПАВ.

Список літератури

1. *ZAki M.S., Fawzi O.M., Abd EL-Zaher M.F*. Bioremediation of contaminants // Life Sci. J. – 2013. – V. 10, № 1. – P. 3329−3332.

2. *Tyagi M., da Fonseca M.M., Carvalho C.C.* Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes // Biodegradation. − 2011. − V. 22, № 2. − P. 231–241.

3. *Pirog, T.P., Shevchuk, T.A., Voloshina, I.N., Gregirchak, N.N*. Use of claydite-immobilized oil-oxidizing microbial cells for purification of water from oil // Appl. Biochem. Microbiol. − 2005. – V.41, № 1. – P. 51–55.

4. *Pirog T., Sofilkanych A., Konon A., Shevchuk T.; Ivanov S*. Intensification of surfactants' synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* K-8 on fried oil and glycerol containing medium // Food Bioprod. Process. – 2013. − V. 91, № 2. − P. 149−157.

5. *Gadd G.M.* Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation // Microbiology. − 2010. − V. 156, № 3. − P. 609–643.

6. *Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Клименко Ю.А*. Интенсификация синтеза поверхностно–активных веществ при культивировании *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на н-гексадекане // Прикл. биохимия и микробиология − 2010. − Т. 46, № 6. − С.651−658.

7. *Torres Pazmino D.E., Winkler M., Glieder A., Fraaije M.W.* Monooxygenases as biocatalysts: classification, mechanistic aspects and biotechnological applications // J. Biotechnol. − 2010. − V. 146, № 1−2. − P. 9−24.

8. *Lima T.M.S., Procopio L.C., Brandao F.D., Carvalho A.M.X., Totola M.R., Borges A.C.* Simultaneous phenanthrene and cadmium removal from contaminated soil by a ligand/biosurfactant solution // Biodegradation. – 2011. − V. 22, № 5. – P. 1007–1015.

9. *Singh A.K., Cameotra S.S.* Efficiency of lipopeptide biosurfactants in removal of petroleum hydrocarbons and heavy metals from contaminated soil // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. – 2013. – V. 20, № 10. – P. 7367–7376.

BIOSURFACTANT SYNTHESIS BY *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMV AC-5017, *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV B-7241 AND *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405 ON BYPRODUCT OF BIODIESEL PRODUCTION

Tetyana Pirog, Mariya Shulyakova

National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

Abstract. The maximum concentration of surfactants synthesized by *Rhodococcus erythropolis* IMV AC-5017 (1.6 g/L), *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 (4.2 g/L), and *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241(5.6 g/L) was reached in the medium with 4–6 % (v/v) technical glycerol (waste product of biodiesel production). The possibility of intensifying surfactants synthesis by *R. erythropolis* IMV AC-5017 and *N. vaccinii* IMV B-7405 can be established as a result of exogenous precursors introduction into the medium with technical glycerol. The increased amount of product was obtained when *R. erythropolis* IMV AC-5017 and *A. calcoaceticus* IMV B-7241 were grown on a mixture of technical glycerol and n-hexadecane in a molar ratio of 1:8.

Keywords*:* microbial surfactants, byproduct of biodiesel production

Introduction. Glycerol fraction that is formed as a waste of biodiesel production, can not be used in many traditional fields (pharmaceutical and cosmetic industries, the military-industrial complex) without expensive purification stages [1−4]. The transesterification of vegetable oils (or animal fats) with methanol or ethanol (for 1 ton of oil about 200 kg of alcohol is consumed) has to be carried out to obtain biodiesel. Sodium or potassium is used as a catalyst. Therefore, technical glycerol contains no more than 60–80 % of glycerol and potassium (or sodium) salts, residues of fatty acids, alcohols and water. Storage and disposal of untreated technical glycerol is a serious environmental problem because of the high alkalinity and the content of methanol.

One of the alternative ways of disposing of technical glycerol is its use in the technology of microbial synthesis of valuable products. However, due to the presence of potential inhibitors in the technical glycerol (methanol, sodium and potassium salts), it is a much less suitable substrate (compared to purified glycerol) for the cultivation of microorganisms.

The aim of present work – to study the influence of technical glycerol components (methanol, ethanol, potassium and sodium salts) on the formation of surfactants by strains *A. calcoaceticus* IMV B-7241, *R. erythropolis* IMV AC-5017 and *N. vaccinii* IMV B-7405 [5] and the possibility of the use of waste from biodiesel production for the synthesis of surfactants.

Materials and methods. *R. erythropolis* IMV Ac-5017 was grown on a liquid mineral medium, which contained (g/L): $NaNO_3$ – 1.3; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0.1; NaCl – 1.0; Na_2HPO_4 – 0.6; KH_2PO_4 – 0.14; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0.01; pH 6.8 − 7.0.

A. calcoaceticus IMV B-7241 was grown in the medium where $NaNO_3$ was replaced with $(NH_2)_2CO$ in concentration of 0.35 g/L. The yeast autolysate (0.5 %, v/v) and trace elements solution (0.1 %, v/v) were also added into the medium.

N. vacinii IMV B-7405 strain was grown on the synthetic nutrient medium containing (g/L): $NaNO_3$ – 0.5; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0.1; $CaCl \times 2H_2O$ – 0.1; KH_2PO_4 – 0.1; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0.1, yeast autolysate – 0.5 vol. %.

Purified glycerol (> 99.5%) in concentration of 1.0–1.5 % (v/v)was used as a source of carbon and energy. Methanol or ethanol (0.3 %, v/v) and NaCl or KCl (2.5 %) were added to the mineral medium with purified glycerol to modify the average composition of technical glycerol. This substrate is hereinafter referred to as "***modified glycerol***". ***Technical*** glycerol, a waste product of biodiesel production (Zaporizhzhia Biofuel Plant, Zaporizhzhia, Ukraine), was also used as a carbon source. The concentration of technical glycerol in the culture medium was 2–10 % (v/v). Its content in the medium was converted to equimolar carbon concentration of the purified glycerol- taking into account the average content of glycerol in waste product (70 %). NaCl and KCl at a concentration of 1-10 % were added into a medium with the purified glycerol in one of the variants.

Ethanol (1%, v/v) or mixture of n-hexadecane (0.5%, v/v) and technical glycerol in a molar ratio of 1:6, 1:7 and 1:8 were also used as carbon sources in the medium for cultivating *R. erythropolis* IMV Ac-5017 and *A. calcoaceticus* IMV B-7241. Fumarate (0.01–0.2%), citrate (0.01–0.1%) were added (we used 10 % solutions of sodium salts or citric acid in equimolar carbon concentration to sodium citrate) into the medium with technical glycerol at the beginning of the stationary growth phase of strains IMV Ac-5017, IMV B-7241 and IMV B-7405. Periodical (1–2 times per day), alkalinization of culture medium to pH 7.0 and 8.0 with 0.1 M solution of NaOH was carried out in one variant after the introduction of sodium fumarate. Glucose (0.05 %) or sunflower oil (0.05 %, v/v) were added into the medium with technical glycerol in the early stationary growth phase of *N. vaccinii* IMV B-7405.

The amount of extracellular surfactant was defined by weighing it after it had been extracted from the culture liquid supernatant by Folch mixture (chloroform and methanol, 2:1).

Results and discussion. At the first stage of experiments we investigated the effect of the impurities contained in the technical glycerol (potassium and sodium salts, methanol, and ethanol) on the synthesis of surfactant by strains IMV Ac-5017, IMV B-7241 and IMV B-7405. The addition of KCl or NaCl at a concentration of 2.5 % into a medium with refined glycerol led to an increase in conditional surfactant concentration by 4–35 %. Subsequent experiments showed that the simultaneous addition of alcohols and chlorides into the medium with purified glycerol was not accompanied by the inhibition of the synthesis of surfactants.

We established the possibility of growth and synthesis of surfactants by *R. erythropolis* IMV AC-5017, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *N. vaccinii* IMV B-7405 not only in modified glycerol fractions (containing 0.3% ethanol and 2.5% sodium chloride), but also in the technical glycerol, obtained directly from the manufacturing plant. The concentration of extracellular surfactants synthesized while cultivation of studied strains in the technical glycerol was almost two times higher than the in the purified glycerol and 1.3–1.4 times

higher than in modified glycerol.

The maximum concentration of surfactant was observed after cultivating strains IMV B-7405 and IMV AC-5017 in media that contained 4 % of technical glycerol, strain IMV B-7241 – in medium with 2 % of technical glycerol. With increasing duration of the process, the concentration of synthesized surfactants remained almost unchanged or increased slightly.

Previous studies have shown the possibility of increasing surfactant concentration 40−150% by the addition of fumarate (precursor of gluconeogenesis) and citrate (regulator of lipid synthesis) into the medium with a purified glycerol in the early stationary growth phase of *N. vaccinii* IMV B-7405 and *A. calcoaceticus* IMV B-7241 [5]. Therefore, in the next phase we studied the effect of organic acids on the synthesis of surfactant during the growth of strains on the technical glycerol.

The simultaneous introduction of fumarate (0.2 %) and citrate (0.1 %) was accompanied by an increase in the concentration of *R. erythropolis* IMV Ac-5017 surfactant by 215 % compared with the growth of bacteria in the medium without organic acids. In this case, replacement of sodium citrate to citric acid did not lead to a higher synthesis of surfactants, which can be explained by a significant decrease in pH (to 3.96) and therefore, the creation of sub-optimal conditions for biosynthesis of surfactant by investigated strain (optimal pH is 8.0). Since the cultivation of strain IMV Ac-5017 on technical glycerol was accompanied by a significant decrease in pH in further experiments, the alkalinization of culture liquid was undertaken during the process of biosynthesis. A slight increase in the concentration of synthesized surfactant in the case of periodic titration with sodium hydroxide to pH 7.0 can be explained by the presence in the medium of a single precursor – sodium fumarate, and hence a less stimulatory effect on biosynthesis, compared with the simultaneous addition of fumarate and citrate. However, regulation of pH to the optimal level for the surfactant synthesis (8.0) was significantly more efficient – under these conditions the concentration of extracellular surfactant was more than 3 folds higher than in medium without fumarate.

It should be noted that in contrast to *R. erythropolis* IMV Ac-5017, for *A. calcoaceticus* IMV B-7241, the effect of the introduction of exogenous organic acids

when cultured on a technical glycerol was not observed. Obviously this may be caused by the inhibititable transportation of exogenous organic acids in the cells of strain IMV B-7241 by components of technical glycerol.

Concentration of extracellular surfactant was 44% higher in the presence of organic acids in the medium with technical glycerol used for cultivating *N. vaccinii* IMV B-7405 compared to the rates in a medium without fumarate and citrate.

Taking into account the chemical composition of surfactant of *N. vacsinii* IMV B-7405 (a complex of neutral, glyco- and aminolipids) [5], we have suggested that the introduction of glucose and vegetable oils into a medium with glycerol will also intensify the synthesis of surfactants. The experiments have shown that the addition these precursors in a concentration of 0.05 % into the medium with technical glycerol accompanied by increased concentrations of synthesized surfactants by 17–26 % compared with rates in a medium without glucose and sunflower oil.

Another approach to improve the efficiency of microbial synthesis technology is the use of a mixture of energy unequal growth substrates. In previous studies we have shown the principal possibility of intensifying the synthesis of surfactants by *R. erythropolis* IMV Ac-5017 and *A. calcoaceticus* IMV B-7241 on the mixture of n-hexadecane and purified glycerol [6, 7]. We have determined the concentration of energy excess n-hexadecane, allowing to increase the efficiency of conversion of carbon substrates into surfactants. When n-hexadecane and glycerol where used in molar concentration ratio of (1:7) − (1:8) the amount of the synthesized extracellular surfactant was increased by 2−3 folds compared to that on monosubstrates [6].

Further purified glycerol in the mixed substrate for the cultivation of strains IMV Ac-5017 and IMV B-7241 was replaced by waste product of biodiesel. Indexes of surfactant synthesis while cultivating strain IMV Ac-5017 on a mixture of n-hexadecane and technical glycerol are presented in Table 2. These data shows that maximal indexes of surfactants synthesis achieved when the molar concentration ratio of n-hexadecane and technical glycerol in the mixed substrate equals 1:8. In this case the 22 and 47 % increased concentration of synthesized surfactants was observed compared with the concentration of product synthesized on the appropriate monosubstrates. At the same time, the cultivation of *A. calcoaceticus* IMV B- 7241

on mixtures of n-hexadecane and technical glycerol were not accompanied with the increased surfactant synthesis compared with rates on monosubstrates.

A promising approach to the disposal of technical glycerol – a by-product of biodiesel production – is its use in the biotechnology industry as a substrate for the cultivation of microorganisms. About five years ago the focus of researchers was directed towards the anaerobic microbial transformation of glycerol to produce alcohols and ketones, then a few years later, the possibility of using this substrate for the synthesis of organic acids, pigments and surfactants was shown [1−4]. However, the purified glycerol is used in most of the processes of microbial synthesis, and some biotechnologies based on technical glycerol are unprofitable. Thus, the economic calculations have shown that the most appropriate technological scheme of obtaining microbial poly-3-hydroxybutyrate from glycerol requires its purification up to 98 %.

In the paper [8], the possibility of obtaining of ramnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* MSIC02 grown on biodiesel production wastes is decribed. Maximal concentration of ramnolipids (1.27 g/l) was achieved by culturing the strain in medium, containing 18 g/l of crude glycerol. It was found that the surface-active compound peak level (1.37 g/l) was synthesized at 60-th hour of growth of *Bacillus subtilis* LSFM-05 on the medium with crude glycerol (5% v/v) [9].

Therefore, parameters of surfactant synthesis provided by *A. calcoaceticus* IMV B-7241, *R. erythropolis* IMV Ac-5017 and *N. vaccinii* IMV B-7405 cultivated on biodiesel production wastes appear to be at least not worse, and often even better, than those described in literature in relation to many well-known producers.

Conclusion.The bioconversion of glycerol in microbial surfactants will solve two urgent problems: first, reduce the cost of technology for the production of surfactants by using cheap raw materials as a substrate; second, increase the profitability of biodiesel production by utilizing its by-product glycerol.

References

1. *Almeida J. R., Favaro L. C., Quirino B. F.* Biodisel biorefinery: opportunities and challenges for microbial production of fuels and chemicals from glycerol waste // Biotechnol.

Biofuels. – 2012. – V. 5, N 1. − doi: 10.1186/1754-6834-5-48.

2. *Yang F., Hanna M.A., Sun R.* Value-added uses for crude glycerol – a byproduct of biodiesel production // Biotechnol. Biofuels. – 2012.− 5:13. − doi: 10.1186/1754-6834-5-13.

3. *Samul D., Leja K., Grajek W.* Impurities of crude glycerol and their effect on metabolite production // Ann. Microbiol. – 2014.− V. 64. – P. 891−898. doi 10.1007/s13213-013-0767-x.

4. *Pirog T. P.,. Grytsenko N. A, Sofilkanych A. P., Savenko I. V.* Technologies of synthesis of organic substances by microorganisms using waste biodiesel production // Biotechnologia acta. − 2015. −V. 8, N 3. − P. 9−27.

5. *Pirog T., Sofilkanych A., Konon A., Shevchuk T.; Ivanov S.* Intensification of surfactants' synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* K-8 on fried oil and glycerol containing medium // Food Bioprod. Proces. – 2013. − V. 91, N 2. − P. 149−157.

6. *Pirog T. P., Konon A. D., Shevchuk T. A., Bilets I. V*. Intensification of Biosurfactant Synthesis by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 on a Hexadecane–Glycerol Mixture // Microbiology. – 2012. −V. 81, N. 5. − P. 565–572.

7. *Pirog T., Sofilkanych A., Shevchuk T., Shulyakova M.* Biosurfactants of *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017: Synthesis Intensification and Practical Application // Appl Biochem Biotechnol. − 2013. − V. 170, N 4. − P. 880−894. doi 10.1007/s12010-013-0246-7.

8. *de Sousa J.R., da Costa Correia J.A., de Almeida J.G.L., Rodrigues S., Pessoa O.D.L., Melo V.M.M., Goncalves L.R.B.* Evaluation of a co-product of biodiesel production as carbon source in the production of biosurfactant by *P. aeruginosa* MSIC02 // Process Biochem. – 2011. – V. 46, N 9. – P. 1831–1839.

9. *Faria A. F., Teodoro-Martinez D. S., Oliveira Barbosa G. N., Vaz B. G., Silva I. S., Garcia J. S., Totola M. R., Eberlin M. N., Grossman M., Alves O. L., Durrant L. R.* Production and structural characterization of surfactin (C14/Leu7) produced by *Bacillus subtilis* isolate LSFM-05 grown on raw glycerol from the biodiesel industry // Process Biochem. – 2011. – V. 46, N 10. – P. 1951–1957.

ЕКОМОРФІЧНИЙ АНАЛІЗ РОСЛИННОГО ПОКРИВУ ТЕРИТОРІЙ ЕЛЕКТРИЧНИХ ПІДСТАНЦІЙ

Олена Потапенко

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Abstract. The present article studies actuality the role of electric substations as local refugiums of biodiversity. The geobotanical description was carried out on the 19th electric substations.

Keywords: electric substations, biodiversity, process oil, vegetation, soil.

Вступ. ПАТ «ДТЕК Дніпрообленерго» – це найбільша енергопостачальна Компанія в Україні, яка займається двома видами діяльності: передача та постачання електроенергії. Під час процесу передачі та постачання електроенергії можливий вплив на навколишнє природне середовище: на атмосферне повітря, на водні ресурси, на землі, на біорізноманіття тощо.

Збереження екологічного балансу є невід'ємною частиною стратегії успішного ведення бізнесу ПАТ «ДТЕК Дніпрообленерго». Електричні підстанції Компанії розташовано на території усієї Дніпропетровської області. Розгалуженість структури зумовлюють взаємодію з навколишнім середовищем.

Особливий режим функціонування створює умови для вивчення процесу впливу техногенного середовища на біорізноманіття для пошуку балансу поміж економічним розвитком та збереженням довкілля.

Понад 60 % електричних підстанцій працює більше 25 років і потребує заміни. Це загальна картина в обленерго України, що обумовлено хронічним недофінансуванням галузі протягом 20 років.

Експлуатація оливонаповненого обладнання обумовлює ризик розливів нафтопродуктів. Тому важливо дослідити можливі антропогенні зміни ґрунтів в районі електричних підстанцій.

Для діагностики ґрунтів доцільно застосовувати заходи геоботанічної індикації за непрямими ознаками, наприклад, зміни покриття порівняно з фоновою ділянкою, випадіння окремих видів, розвитку фітопатологічних відхилень («морф»), змінами в лісової підстилці та опаді [1].

З метою ліквідації розливів нафтопродуктів та попередження утворення промащених відходів оливоприймачі 5 трансформаторів в 2013 році на одній з підстанцій було оброблено спеціальним складом бактерій, що розкладають нафтопродукти на безпечні речовини.

Технології показали свою ефективність, але є нагальна потреба у розробленні нової доступної за ціною технології відновлення земель, яка може бути виконана фахівцями Компанії.

Важливим аспектом екологічної оцінки територій енергетичних підстанцій є визначення їх ролі як локальних рефугіумів біологічного різноманіття. Ці території є режимними об’єктами, які значною мірою екрановані від цілої низки зовнішніх впливів. Їх можна розглядати як елементи територіальної мозаїчності, які формують осередки, які зазнають меншого агротехногенного впливу.

Ми висуваємо гіпотезу, що території енергетичних підстанцій на тлі специфічного екологічного режиму, а саме – підвищений електромагнітний фон та ризик потрапляння нафтопродуктів (трансформаторної олії) у ґрунт, можуть виконувати роль рефугіумів біологічного різноманіття.

Ціль дослідження передбачає оцінку показників біологічного різноманіття для двох груп живих організмів, які володіють значним біоіндикаційним потенціалом: рослинні угруповання та угруповання ґрунтової мезофауни.

Слід відзначити, що існують подібні методологічні засади аналізу особливостей біологічного різноманіття [2 - 7].

Ключовим принципом дослідження екологічних особливостей рослинного покриву в умовах степової України є екоморфічний аналіз

О.Л. Бельгарда [2, 3]. Можливість застосування принципів екоморфічного аналізу для вирішення питань зоологічної діагностики ґрунтів була показана О.Л. Бельгардом та А.П. Травлєєвим [4].

Поряд з екоморфічним аналізом значною результативністю володіє методика фітоіндикації [7].

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведені восени 2016 р. Геоботанічне описання проведене на 19 енергетичних підстанціях (рис. 1). У межах кожної підстанції окремо було зроблено геоботанічний опис контрольної ділянки, яка не зазнала негативного впливу розливу технологічної олії та ділянки з очевидними слідами розливу технологічної олії. Крім того, у межах підстанцій здійснені описання у додаткових ділянках. Загальна кількість геоботанічних описів становить 51, з яких 22 – для контрольних умов та 29 – для забруднених технологічною олією ділянок. Екоморфи рослин наведені за О.Л. Бельгардом [2] та В.В. Тарасовим [8].

Результати і обговорення. У результаті проведеного дослідження встановлено, на території ділянок електричних підстанцій видовий склад угруповань рослин представлений 118 видами рослин. Рослинність представлена двома відділами – Bryophyta (переважно видом синтріхія польова – *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr) та Magnoliophyta. Свою чергу, останній відділ представлений класом Liliopsida (19 видів) та Magnoliopsida (98 видів). Клас представлений трьома порядками та трьома родинами (Hemerocallidaceae, Cyperaceae, Poaceae), серед яких Poaceae найбільш різноманітний та представлений 17 видами. Найбільш різноманітними по кількості видів є роди Festuca (3 види) та Poa (4 види). Слід відзначити, що представники вказаних родів є також найбільшими за своєю роллю у ценозі за проективним покриттям. До таких лідерів належать костриця валіська (*Festuca valesiaca* Goud. s.l.) та тонконіг вузьколистий (*Poa angustifolia* L.). Серед Magnoliopsida найбільш багатим видами є родини Asteraceae (28 видів), Fabaceae (9 видів), Lamiaceae (5 видів) та Rosaceae (5 видів).

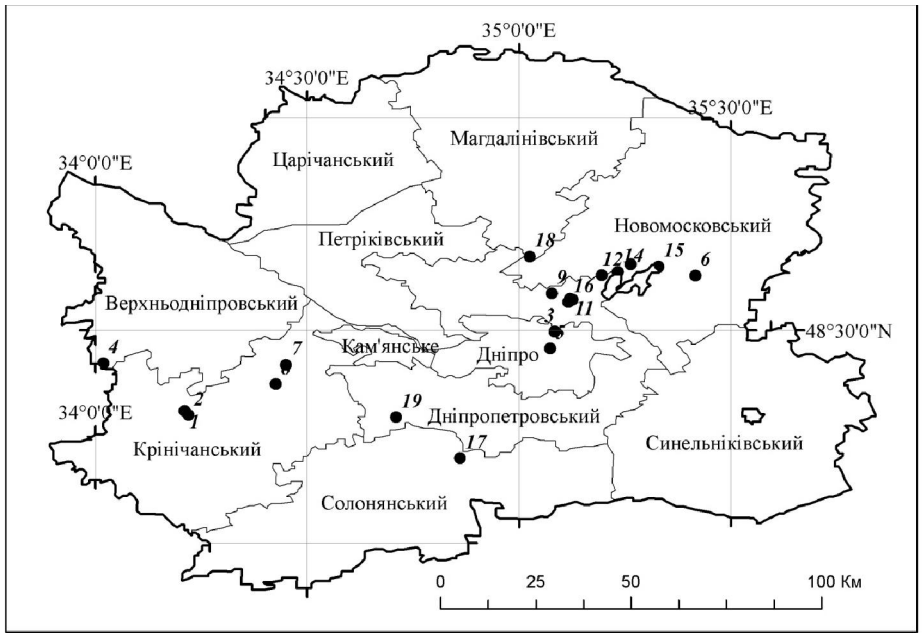


Рис. 1. Карта розміщення точок відбору проб

Розподіл проективного покриття угруповань має значно асиметричний характер (рис. 2, А). Процедура логарифмування дозволила привести розподіл до більш наближеної до нормального закону форми (рис. 2, В). Розподіли логарифмованих значень для контрольних та забруднених ділянок вказують на суттєві відмінності у щільності рослинного покриву за різних умов антропогенного навантаження (рис. 2, С).

Для пошуку статистичних оцінок проективного покриття рослинності первинні результати попередньо були логарифмовані, потім піддані статистичному аналізу, після чого статистичні оцінки піддали процедурі експоненціювання. Так як досліджений розподіл не є симетричним, то межі довірчого інтервалу також не є симетричними відносно оцінки середнього значення. В контрольних умовах середнє значення проективного покриття рослинності становить 79,68 %. За умов забруднення ґрунту технологічною олією проективне вкриття рослинності значно знижується до рівня 7,16 %. Наслідки негативного впливу потрапляння олії у ґрунт на показники проективного покриття рослинності статистично вірогідні ($F = 98{,}2$, $p = 0{,}00$).

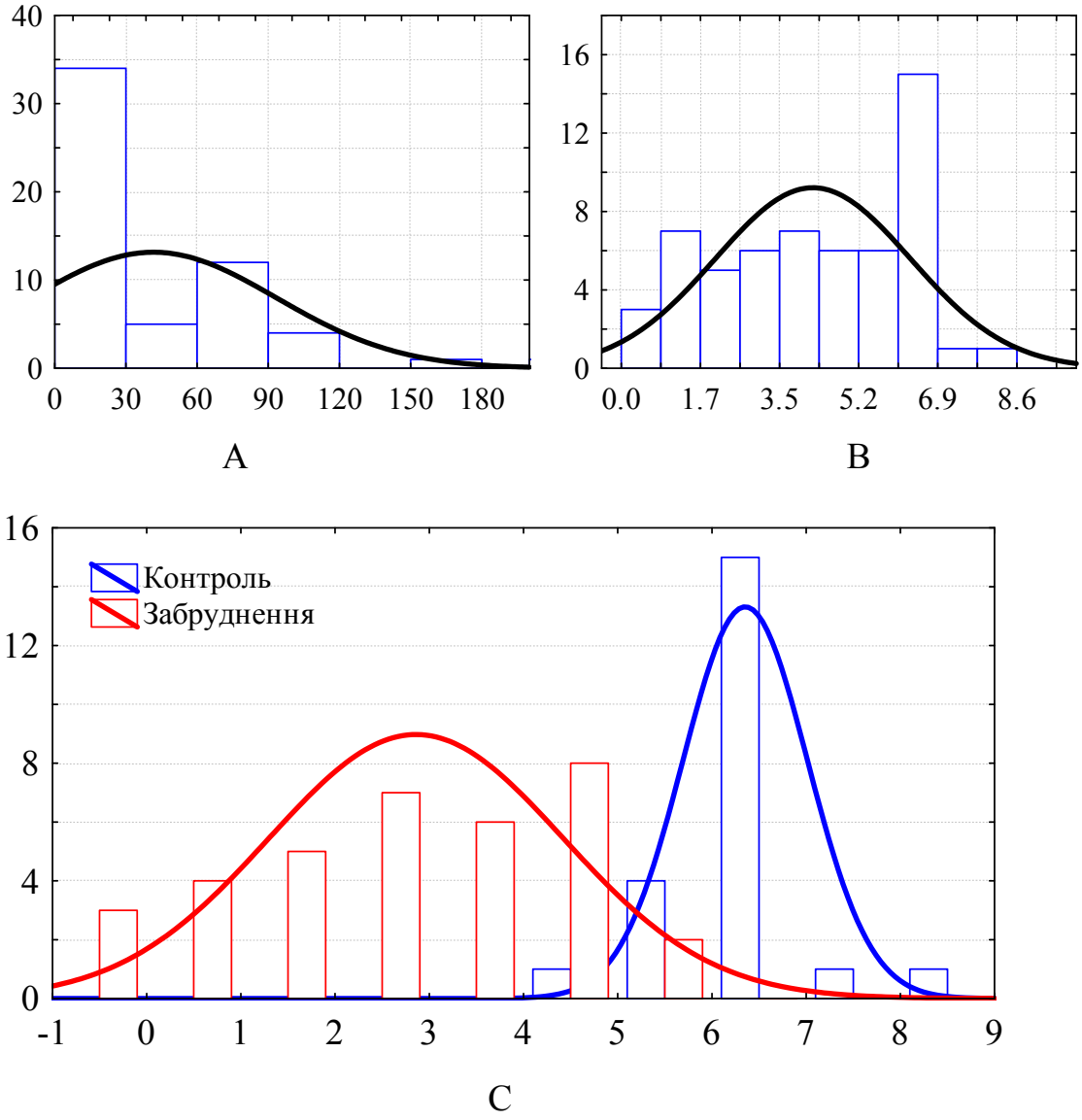


Рис. 2. Гістограми розподілу оцінок проективного покриття рослинності у межах територій електричних підстанцій. А – загальний розподіл, у %; В – загальний розподіл, у логарифмованому масштабі; С – розподіли у контролі та при забрудненні, у логарифмованому масштабі.

Висновки. Ділянки у межах енергетичних підстанцій надають притулок для рослинних угруповань, які характеризуються значним видовим, таксономічним та екологічним різноманіттям. Ці ділянки можуть розглядатися як мікрорефугіуми, які є осередками для збереження та поширення біологічного різноманіття в умовах антропогенно трансформованих ландшафтів степового Придніпров'я.

1. У межах територій енергетичних підстанцій існують джерела підвищеного антропогенного впливу в вигляді забруднення ґрунтів технологічною олією. Забруднення ґрунту може призводити до значного зменшення проективного покриття рослинності.

2. Основними трендами трансформації екологічної структури біогеоценотичного покриву за умов забруднення ґрунту технологічною олією є збільшення частки однорічних рудерантів, аридизація режиму вологості та збіднення ефективної родючості едафотопу.

Список літератури

1. *Герасимова М.И.* Антропогенные почвы: генезис, география, рекультивация / М.И. Герасимова, М.Н. Строганова, Н.В. Можарова, Т.В. Прокофьева – Под редакцией академика РАН Г. В. Добровольского. – Смоленск: Ойкумена, 2003. – 268 с.

2. *Бельгард А.Л.* Лесная растительность юго-востока УССР / А.Л. Бельгард // Киев: Изд–во КГУ, 1950. – 263 с.

3. *Бельгард А.Л.* Степное лесоведение / А.Л. Бельгард // М.: Лесная промышленность, 1971. – 336 с.

4. *Бельгард А.Л.* Роль почвенной фауны в индикации эдафотопов / А.Л. Бельгард, А.П. Травлеев // Проблемы и методы биологической диагностики и индикации почв. – М.: Изд–во МГУ. – 1980. – С. 155–163.

5. *Бондарь Г.А.* Экологическая структура растительного покрова, сформированного в результате самозарастания дерново–литогенных почв на лессовидных суглинках / Г.А. Бондарь, А.В. Жуков // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2011, № 1. – С. 54–62.

6. *Гиляров М.С.* Зоологический метод диагностики почв / М.С. Гиляров // М.: Наука, 1965. – 276 с.

7. *Дідух Я.П.* Основи біоіндикації / Я.П. Дідух. – К.: Наукова думка, 2012. – 344 с.

8. *Тарасов В.В.* Флора Дніпропетровської і Запорізької областей / В.В. Тарасов. – Видання друге. Доповнене та виправлене. Д.: „Ліра”, 2012 – 296 с.

Подяка. Автор висловлює подяку науковому співробітнику природного заповіднику «Дніпровсько-Орільський» Ганжі Д.С. за допомогу в визначенні матеріалу.

ВИРІШЕННЯ ПРОБЛЕМИ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД ВІД НАФТОПРОДУКТІВ

Олена Семенова, Наталія Бублієнко, Тетяна Шилофост, Алла Жилик, Олександра Семенова

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Анотація. Розглянуто питання забруднення стічних вод продуктами переробки нафти. Проведено дослідження на експериментальній установці, яка являє собою блок біохімічного окиснення та підтверджено ефективність його використання.

Ключові слова: стічні води, нафтопродукти, біохімічне очищення, аеротенк-окиснювач, пінотенк

Вступ. Боротьба із забрудненнями – важливий аспект природоохоронної діяльності людини. Вода – один із головних компонентів навколишнього природного середовища. Вплив антропогенних факторів на біосферу Землі створив виникнення негативних явищ, які призводять до деградації екосистеми і глобальної екологічної кризи. Особливе побоювання в даний час викликає зростаюче забруднення морів, річок, ґрунту, в тому числі нафтою і нафтопродуктами. У результаті роботи харчових підприємств утворюються стічні води. А в результаті таких операцій як миття обладнання, автомобільних цистерн, потрапляння технічних мастил у стоки утворюються стічні води, що містять продукти переробки нафти.

Проблема очищення вуглеводневмісних стічних вод вирішується досить повільно, адже для ліквідації таких забруднень, зазвичай, застосовують механічний спосіб очищення. Дана технологія не має успіху, це пояснюється тим, що при низькому вмісту нафтопродуктів у воді, коли вони знаходяться у емульгованому і розчинному стані, механічний принцип розділу не прийнятний. Отже, при малих кількостях нафтопродуктів у воді, потрібно

відмовитись від принципу виділення, а використовувати принцип їх руйнування (окиснення).

Матеріали та методи досліджень. Для вирішення цієї проблеми пропонуємо використання біохімічного способу. При дотриманні технології біохімічного очищення забезпечується практично повне видалення нафтопродуктів, що не досягається іншими відомими способами (механічним і фізико-хімічним). Очищена вода відповідає вимогам й по інших показниках, що досягаються тільки біохімічним способом (зниження концентрації умовно-патогенних мікроорганізмів, розкладання розчинених органічних речовин – білків, вуглеводів та насичення води киснем).

Дослідження проводились паралельно на двох очисних установках (аеротенк-змішувач та блок біохімічного окиснення). Аеротенк-змішувач – очисне обладнання, яке виконано у вигляді споруди циліндричної форми із конічним днищем, перегородка розділяє його на аеротенк і відстійник, що дозволяє забезпечити компактність установки.

Блок біохімічного окиснення складається із пінотенка та аеротенка-окиснювача. В пінних шарах проходить інтенсивне перемішування рідкої фази, що в свою чергу, сприяє інтенсифікації процесу біосорбції. На нижній поверхні перегородок (які омиваються рідиною і повітрям) та стінках пінотенка утворюється шар біоплівки, що сприяє також додатковій інтенсифікації процесу біосорбції та процесу вилучення забруднень в цілому.

Процес проходив в неперервному режимі. Для визначення основних гідрохімічних та технологічних показників процесу очищення використовувались стандартні методики.

Нами були визначені основні показники забрудненості вуглеводневмісних стічних вод – концентрація забруднень за ХСК складає в середньому 300 мгO_2/дм^3, за БСК – 130 мгO_2/дм^3. За цими даними, відношення БСК/ХСК складає 0,43, що свідчить про можливість характеризувати забруднення вуглеводневмісних стічних вод як біохімічно окиснювальні, однак

споживання нафтопродуктів мікроорганізмами відбувається менш інтенсивно, ніж хімічне окиснення.

Результати і обговорення. Максимальна розрахункова швидкість біохімічного окиснення забруднень вуглеводневмісних стічних вод безпосередньо залежить від ступеня здатності цих забруднень біохімічно окиснюватись.

Для повного уявлення про забрудненість нафтопродуктами необхідно знати, з яких основних груп речовин складаються забруднення вуглеводневмісних стічних вод, які пропонується очищати біохімічним способом.

З цією метою нами було проведено експериментальне вивчення складу забруднень вуглеводневмісних стічних вод за групами органічних речовин. Результати цього дослідження подані в табл. 1.

Таблиця 1. Результати хроматографічного розділення зразка вуглеводневмісної стічної води

Вихід фракцій вуглеводнів, %		
Парафіно-нафтенові	Ароматичні	Смолисті
57,86	28,53	4,09

Наведені результати мас-спектрального аналізу показали, що нафтопродукти в стічній воді відповідають гасовій або легкій масляній фракції нафти, тобто можуть бути окисненні специфічними мікроорганізмами, які належать до родів *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* і *Acinetobacter*.

Уявлення про ступінь здатності забруднень вуглеводневмісних стічних вод біохімічно окиснюватися дає вивчення кінетики ходу біохімічного споживання кисню в розведених пробах стічної рідини (пробах на БСК).

Були досліджені проби з різним вмістом нафтопродуктів. Інкубування проб було виконано в різні значення часу (до 30 діб). Результати визначення БСК в цих пробах наведені в табл. 2.

Таблиця 2. Дані експериментального дослідження зміни БСК в пробах вуглеводневмісних стічних вод

Час, доба	Величина БСК в мгO_2/дм^3 при концентрації нафтопродуктів, мг/дм^3					
	15	45	60	70	80	100
1	4,0	9,75	11,15	18,7	25,4	31,7
5	10,0	50,25	47,60	53,2	53,4	68,5
10	61,5	62,70	64,00	68,7	70,4	78,5
20	63,5	63,20	70,00	72,5	70,4	79,5
30	64,5	64,20	70,00	72,5	70,4	79,5

Результати проведених досліджень по визначенню основних показників очищення наведені в табл. 3.

Таблиця 3. Порівняння основних показників процесу очищення вуглеводневмісних стічних вод в аеротенку-змішувачі і в блоці біохімічного окиснення

Інгедієнти забруднень і показники процесу очищення	Аеротенк-змішувач			Блок біохімічного окиснення		
	Вхідна вода	Очищена вода	Ефективність очищення, %	Вхідна вода	Очищена вода	Ефективність очищення, %
Концентрація нафтопродуктів, мг/дм^3	80,0	5,4	93,2	80,0	1,2	98,5
Концентрація забруднень за $БСК_5$, мгO_2/дм^3	130,0	40,0	69,0	130,0	17,0	87,0
Концентрація забруднень за ХСК, мгO_2/дм^3	300,0	69,0	77,0	300,0	20,0	93,3

Отримані результати свідчать про експериментальне підтвердження позитивного впливу пінотенка на процес видалення забруднень. Так, наприклад, ефективність зниження концентрації нафтопродуктів збільшилась з 93,2% до 98,5%. Фактором, який обумовив таке підвищення ефективності видалення нафтопродуктів, була тільки наявність пінотенка при всіх інших рівних умовах експериментів. Можна вважати, що на інтенсифікацію процесу головний вплив має біосорбція нафтопродуктів в пінних шарах, а також частково процес окиснення.

Висновки. Підібрано очисне обладнання та такі параметри його роботи, при яких досягається висока ступінь очищення за нафтопродуктами (до 98,5%). Результати експериментів підтверджують, що видалення нафтопродуктів біосорбцією в пінних шарах позитивно впливає на процес очищення стічної води за всіма показниками.

Список літератури

1. *Муравьев А.Г.* Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами. – *СПб.: Крисмас, 2004. – 248 с.*

2. Пат. 75309 Україна, МПК C02F 11/02 (2006.01). Аеротенк-прояснювач / *Семенова О.І., Ткаченко Т.Л., Бублієнко Н.О., Шилофост Т.О.*; власник Національний університет харчових технологій. – № u 2012 06205; заявл. 23.05.2012; опубл. 26.11.2012, Бюл. № 22.

3. *Семенова О.І., Бублієнко Н.О., Ткаченко Т.Л., Говоруха Т.О.* Очищення стічних вод, що містять нафтопродукти // Наукові праці НУХТ. – 2012. - № 42. – С. 53 – 60.

4. *Семёнова Е.И., Бублиенко Н.А., Шилофост Т.А., Бублиенко А.В.* Биохимическая очистка нефтесодержащих сточных вод // Химия и технология води. – 2013. – Т.35, № 4. – С. 331 – 340.

5. *Semenova O., Bublienko N., Smirnova J., Shylofost T.* Process parameters investigation of biochemical oxidation of wastewater oil processing products unit // Наукові праці НУХТ. – 2014. – Т. 20, № 1. – С. 34 – 37.

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ СПОСОБУ ІММОБІЛІЗАЦІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ АКТИВНОГО МУЛУ В ПРОЦЕСІ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД МОЛОКОПЕРЕРОБНОГО ПІДПРИМСТВА

Олена Семенова, Тетяна Сулейко, Олександра Семенова

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The basic indexes of process of cleaning of effluents of suckling plant were certain. The processes of stimulation of aerobic active silt are investigational by immobilization of him on an insoluble transmitter - ground up yellow saponite. Efficiency of the use of the offered method of intensification is well-proven.

Keywords: Wastewater, aerobic activated sludge, immobilization, saponite, cleaning.

Вступ. На сьогоднішній день ресурси прісних поверхневих водних джерел відіграють головну роль в забезпеченні потреб національної економіки. Прогресивна діяльність теперішнього та майбутнього поколінь неможлива без стійкого менеджменту водних ресурсів, що дозволяє підтримувати водні екосистеми та екологічні процеси в водному середовищі в стані, придатному для життя на планеті. Забезпечення необхідної якості використаної води, що скидається у водойми або на центральні очисні споруди, є одним з ключових завдань управління водними ресурсами [1].

Високорозвинені країни кожного року збільшують фінансування розвитку водоохоронних технологій, причому капіталовкладення здійснюються з урахуванням економічної цілеспрямованості. Україна ж прагне стати гідним членом європейської спільноти, тому вищенаведене визначає актуальність спорудження на промислових підприємствах станцій очищення стічних вод. Обов’язковою умовою розроблення проекту будівництва станції очищення стоків виробництва є врахування індивідуальних умов підприємства, але, в

цілому, схема відведення і очищення стічних вод повинна забезпечувати мінімальне скидання стічних вод в водойму, максимальне використання очищених стічних вод в системах повторного і оборотного водопостачання, а також повне вилучення і утилізацію цінних домішок [2]. Реалізувати це можна шляхом застосування біологічного способу очищення стоків [3].

Біологічне очищення є екологічно чистим та економічно найбільш раціональним заходом. На сьогоднішній день більше 90% стічних вод очищаються саме цими способами з використанням відомих гідробіоценозів. Встановлено, що значна роль [4] в знезараженні, трансформації різноманітних органічних забруднювачів, в тому числі і таких, які раніше не зустрічалися в природі, належить бактеріям, грибам та актиноміцетам. Раніше вважали, що існують органічні сполуки, які не піддаються знезараженню під дією мікроорганізмів, від яких неможливо очистити воду за допомогою традиційних біологічних способів. Однак, остаточні дослідження [5] свідчать, що практично не існує органічних сполук, які б мікроорганізми не змогли б перетворити на більш прості сполуки.

Для забезпечення якісного очищення стічної води до біологічного складу активного мулу мають входити різні групи мікроорганізмів (*Rhizopoda*, *Flagellata*, *Mastigophora*, *Ciliata*, Suctoria, *Zoogloea ramigera*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Escherichia* тощо), що здатні до повної мінералізації органічних речовин в очищеній воді. Але, за деякими даними, такі мікроорганізми характеризуються дуже повільною швидкістю приросту [6]. Досягти стійкого, постійного функціонування таких організмів в проточній очисній споруді можна лише за допомогою іммобілізації їх на нерозчинних адсорбентах.

Таким чином, іммобілізація різноманітних організмів водного середовища є необхідною умовою надійного, глибокого та ефективного біологічного очищення стічної води [7].

Метою даної роботи є визначення параметрів процесу аеробної ферментації з використанням інтенсифікації активного мулу способом іммобілізації, при яких основні показники очищення стічних вод досягали б максимальних значень.

Матеріали і методи дослідження. Очищенню піддавалися стічні води типового представника молокопереробної промисловості ВАТ «Бровари-молоко» (концентрація забруднюючих речовин за ХСК становить близько 1400 мг O_2/дм^3). Дослідження проводилися на спеціально сконструйованій лабораторній установці, яка представляє собою поєднання аеротенках-змішувача і вторинного відстійника в єдиному корпусі. Вибір аеротенках-змішувача пояснюється його перевагою над іншими типами аеротенків, а саме: можливістю досягнення однакової концентрації забруднюючих речовин, активного мулу і кисню повітря по всьому об'єму споруди. Метою перетворень традиційної установки аеробного ферментації, що складається з двох ємностей - аеротенках і резервуара для відстоювання муловодяной суміші, було вирішення проблеми експлуатації традиційних вторинних відстійників, які, часом, не задовольняють встановленим вимогам двогодинного відстоювання муловодяной суміші і поділу останньої на очищену стічну воду і активний мул.

В якості іммобілізуючого агенту був обраний жовтий сапоніт, який вважається ефективним та поширеним в промисловості адсорбентом, а крім того ще й достатньо недорогим. Для рівномірного розташування в товщі реакційного середовища, носій був подрібнений до фракції, наближеної за своїми розмірами до пластівців активного мулу, адже перемішування муловодяної суміші здійснювалось дрібнодисперсними бульбашками кисню повітря, і великі розміри іммобілізованої мікрофлори призводили до зависі каталізуючого агенту на дні споруди.

При визначенні основних гідрохімічних і технологічних показників очищення води (ХСК; швидкість розбавлення D; ефективність очищення (якість) і т.д.) були використані стандартні методики [8].

Результати і обговорення. Іммобілізована мікрофлора має цілий ряд переваг при використанні її в прикладних задачах біотехнології. По-перше, такий "іммобілізований каталізатор" процесу очищення легко вилучити з реакційного середовища, що дозволяє зупинити очищення в потрібний момент, крім того іммобілізований носій пристосований до багатократного використання, а очищена стічна вода не забруднена мікробними клітинами, що ставить під сумнів доцільність застосування вторинного відстійника взагалі.

По-друге, використання іммобілізованого активного мулу дозволяє проводити ферментацію стічної води безперервно та регулювати за необхідності швидкість процесу очищення шляхом зміни швидкості протоку.

По-третє, іммобілізація мікробної ферментативної біомаси дозволяє підвищити каталітичну активність ферментів в залежності від зміни деяких факторів середовища, наприклад, pH-середовища, що є дуже актуальним для стоків молочного виробництва, адже вони характеризуються достатньо кислим pH-середовищем, що не є оптимальним для більшості окисно-відновних ферментів.

Отже, ефективність застосування іммобілізованого активного мулу не викликає сумнівів, але з технологічної точки зору реалізація даного способу може бути дещо ускладнена.

На сьогоднішній день відомо кілька способів іммобілізації мікробної біомаси на носіях, наприклад, на розчинних і нерозчинних. Враховуючи умови процесу очищення стічних вод, можливе застосування лише нерозчинних адсорбентів. Тоді постає питання: який спосіб закріплення мікроорганізмів доцільно застосовувати - хімічний або фізичний? Був обраний фізичний спосіб, як найбільш широко вживаний та найстарший з усіх сучасних. Іммобілізація ферментативної біомаси на нерозчинних носіях характеризується виключною простотою та досягається при контакті водного розчину (в даному випадку муловодяної суміші) з носієм. Цей спосіб має назву статичного: підготовлений носій залишають на деякий час в біореакторі, іммобілізація досягається за

рахунок самовільної дифузії ферментів мікроорганізмів на поверхні носія з подальшою їх адсорбцією.

Вибір носія є дуже складною задачею, адже типів носіїв відомо чи мало (від активованого вугілля до синтетичних волокнистих насадок). Був обраний жовтий сапоніт, який вважається ефективним та поширеним в промисловості адсорбентом, а крім того ще й достатньо недорогим. Для рівномірного розташування в товщі реакційного середовища, носій був подрібнений до фракції, наближеної за своїми розмірами до пластівців активного мулу, адже перемішування муловодяної суміші здійснювалось дрібнодисперсними бульбашками кисню повітря, і великі розміри іммобілізованої мікрофлори призводили до зависі каталізуючого агенту на дні споруди.

Іммобілізація мікроорганізмів на носіях здійснювалася в різних умовах за кількісним складом сапоніту, що дало можливість встановити співвідношення кількості адсорбенту до кількості активного мулу на ньому. Отже, стандартна концентрація активного мулу в аеротенку становила 8 г/дм^3. Концентрація ж адсорбенту варіювала. В першій серії дослідів співвідношення наповнювача до активного мулу становило 1:8, тобто на 1 г/дм^3 сапоніту було прикріплено 8 г/дм^3 активного мулу. В другій серії дослідів співвідношення становило 4:8. Третя серія виступала в якості контрольної проби, тобто процес очищення проводився в стандартних умовах без застосування адсорбенту.

Якість процесу очищення оцінювали за динамікою ХСК (хімічне споживання кисню) стічної води. Початкове значення ХСК знаходилося приблизно на рівні 1400 мг O_2/дм^3. В стандартних умовах (в контрольній серії дослідів) очищення до норм скиду в природні водойми відбувалося приблизно за 48 год. А застосування іммобілізованої мікрофлори дозволило покращити ці результати. Отже, в таблиці представлені остаточні значення проведених досліджень.

Таблиця 1. Характеристика процесу очищення стоків молочного виробництва з використанням жовтого сапоніту як нерозчинного носія для іммобілізації аеробного активного мулу

Співвідношення адсорбент:активний мул, г/дм^3: г/дм^3	Значення ХСК (мг O_2/дм^3) в процесі аеробної ферментації				
	Початок	12 год.	24 год.	36 год.	48 год.
1:8	1400	800	400	40	-
4:8	1400	600	40	-	-
0:8 (контроль)	1400	1000	550	250	40

Висновки. Проведені дослідження дозволяють зробити висновки, що використання іммобілізованої мікрофлори є доцільним та ефективним - прикріплена мікрофлора очисної споруди виявляла набагато більшу біохімічну активність, ніж вільно плаваючі пластівці активного мулу в рідкому середовищі; в стандартних умовах (без застосування нерозчинного носія) процес повного очищення завершувався за 48 год., ефективність очищення становила приблизно 95-97 %; при малій концентрації адсорбенту (1 г/дм^3) очищення прискорюється на 25 %, тобто аеробна ферментація скорочувалась до 36 год.; велика концентрація жовтого сапоніту (4 г/дм^3) призводила до повного очищення стічної води за 24 год., тобто процес окислення органічних забруднювачів прискорювався вдвічі; запропонований метод інтенсифікації аеробної ферментації стічної води може бути використаний на станціях водоочищення будь-якого підприємства промисловості, де в якості основної стадії очищення застосовують процес аеробної ферментації забруднюючих речовин стічної води – всі підприємства харчової промисловості та інших галузей народного господарства, що працюють з органічною сировиною.

Список літератури

1. *Гончарук В.В., Чернявская А.П., Жулинский В.Н.* и др. Экологические аспекти современных технологий охораны водной среды. – К.: Наукова думка, 2005. – С. 3–5.

2. Правила приймання стічних вод підприємств у комунальні та відомчі системи каналізації населених пунктів України. № 37 від 19.02.2002 (http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/z0403-02).

3. Концепція «Загальнодержавної програми розвитку та реконструкції централізованих систем водовідведення населених пунктів на 2012-2020 роки» від 22.08.2011 № 1004-р // Офіційний вісник України. – 2011. – № 79. – С. 62.

4. *Василів О.Б.* Структура та шляхи раціонального використання води на харчових підприємствах / О.Б. Василів, О.О. Коваленко // Наук. пр. ОНАХТ. – 2009. – Вип. 35, т. 1. – С. 54-58.

5. *Гвоздяк П.І.* Біологічне очищення води. Фізико-хімічні основи технології очищення стічних вод: Підручник. – К.: Лібра, 2000. – С. 479–502.

6. *Гвоздяк П.И., Глоба Л.И.* Очистка сточных вод в аэротенках // Химия и технология воды. – 1998. – 20, № 1. – С. 61–69.

7. *Тозова Т.А.* Системы биологической очистки сточных вод - технологии новые и новейшие /Т.А. Тозова, Н.А. Денисова // Аква-Терм.— 2002. — №3. — С.91-92.

Муравьев А.Г. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами / Александр Григорьевич Муравьев. – СПб. : Крисмас+, 2004. – 248 с.

МЕДЬРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ШТАММА ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ГЛИН КАРСТОВОЙ ПОЛОСТИ МУШКАРОВА ЯМА

Ольга Суслова, Александр Таширев

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ, г. Киев, Украина

Елена Мокроусова

Киевский национальный университет технологий и дизайна, кафедра биотехнологии, кожи и меха, г. Киев, Украина

Abstract. From Mushkarova Yama cave clays yeast strain was isolated. It was characterized by high resistance to Cu^{2+}. The ability of the strain to accumulate Cu^{2+} in biomass suggests its successful use in creation environmental safety biotechnologies of wastewaters treatment

Key words: *cooper resistance, biotechnology, yeast, caves*

Вступление. На сегодняшний день проблема очистки металлсодержащих промышленных сточных вод определяет поиск новых путей ее решения. Одним из таких перспективных решений является использование микробных биотехнологий. Ключевым моментом создания таких биотехнологий является поиск штаммов микроорганизмов, способных выживать при высоких концентрациях токсичных металлов и взаимодействовать с ними.

Среди металлов различают металлы-окислители, металлы-заместители и металлы комбинированного действия, которые сочетают в себе механизмы негативного действия металлов-окислителей и заместителей на микроорганизмы [7]. К металлам комбинированного действия относится Cu^{2+}. В малых концентрациях Купрум является микроэлементом, необходимым для микроорганизмов [1]. Известно около тридцати медьсодержащих ферментов, функцией которых является редокс-катализ (например, цитохром оксидаза,

нитратредуктаза) или перенос кислорода (например, гемоцианин) [6]. Однако в более высоких концентрациях (10-20 мг/л) Купрум является токсичным. Он поступает в природные экосистемы благодаря техногенной деятельности человека (выплавка металлов, добыча руды, выбросы промышленных предприятий, промышленные сточные воды) [3].

Карстовые полости являются перспективным полигоном для поиска промышленно ценных штаммов микроорганизмов. В последнее время в этих экосистемах ведется активная работа по исследованию микрофлоры и выявлению потенциальных штаммов-основ для создания биотехнологий.

Целью работы было выделение штамма дрожжей, устойчивого к высоким концентрациям Купрум (II) и способного взаимодействовать с ним.

Материалы и методы исследования. Исследуемый штамм дрожжей был выделен из глин карстовой полости Мушкарова Яма. Образец глин был отобран в максимально удаленной от входа точке лабиринтовой пещеры Мушкарова Яма (рис.1), заложенной в гипсах неогенового возраста на Подолье Украины, влажность глин 23 %, концентрация органических соединений 60 мг С/дм^3 [7].

Выделение штамма проводили на агаризованных средах. Для выделения и культивирования микроорганизмов использовали среды с высокой концентрацией органических соединений (копиокарботрофные, концентрация углерода 850 мг/л – Nutrient Agar, Nutrient Broth (HiMedia Ltd., India). Вначале готовили десятикратные разведения глин в стерильном физиологическом растворе (NaCl 0,9 %, «Макрохим», Украина). Микробные суспензии (по 0,1 мл) из последовательных десятикратных разведений высевали на агаризованную среду. Выросшие колонии, пересевали в жидкую среду. Далее изоляты рассевали на агаризованную среду для проверки их чистоты и получения отдельных колоний.

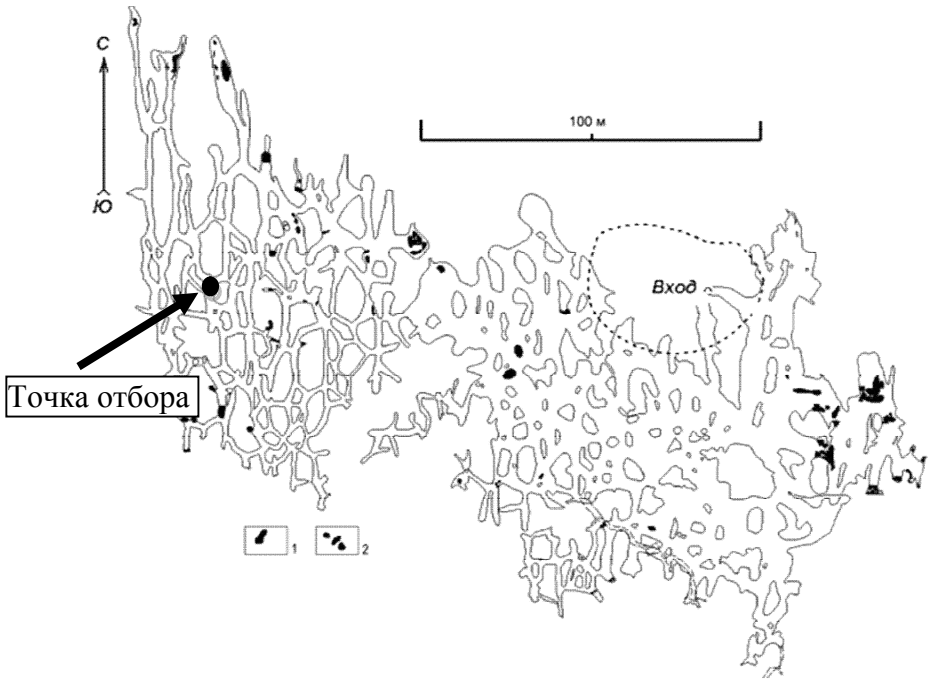


Рис. 1. План карстовой полости Мушкарова Яма

Приготовление растворов меди. Поскольку устойчивость микроорганизмов к Cu^{2+} может отличаться в зависимости от вида соединений Cu^{2+}, мы использовали хлорид и цитрат Купрум (II). Стандартный раствор $CuCl_2$ («Синбиас», Украина) представляет собой водный раствор соли $CuCl_2 \times 2H_2O$ с концентрацией 20000 мг/л Cu^{2+}. Для приготовления раствора цитрата Купрума такой же концентрации 5,34 г $CuCl_2 \times 2H_2O$ растворяли в химическом стакане в 50 мл дистиллированной воды. В результате образовывался светло-голубой раствор $CuCl_2$. После этого в раствор $CuCl_2$ вносили 20 г трехзамещенного цитрата натрия ($C_6H_6Na_3O_7 \times 1{,}5H_2O$, «Синбиас», Украина). После внесения $C_6H_6Na_2O_7 \times 1{,}5H_2O$ образовывался темно-синий раствор цитрата Купрум (II). Раствор переносили из химического стакана в мерную колбу объемом 100 мл и доводили объем раствора дистиллированной водой до метки [8].

Контрастирование сероводородом Купрум (II) в колониях микроорганизмов. Известно, что H_2S при реакции с катионами двухвалентных металлов образует нерастворимые сульфиды металлов черного или темно-

коричневого цвета в соответствии с уравнением реакции $Me^{2+} + S^{2-} = MeS\downarrow$. С помощью этой реакции можно определять, накапливают ли микроорганизмы двухвалентные металлы. Для этого колонии микроорганизмов, выросших на плотной питательной среде в присутствии Cu^{2+}, обрабатывали сероводородом. Под вытяжным шкафом H_2S (6 мл) вносили шприцем в чашку Петри с микроорганизмами. После обработки H_2S биомасса, в случае накопления Cu^{2+}, приобретала темно-коричневую окраску [9]. Контролем служил тот же штамм, выросший на среде без металла.

Основные результаты с обсуждением. В результате был выделен штамм розовопигментированных дрожжей, предварительно отнесенный к роду *Rhodotorulla*.

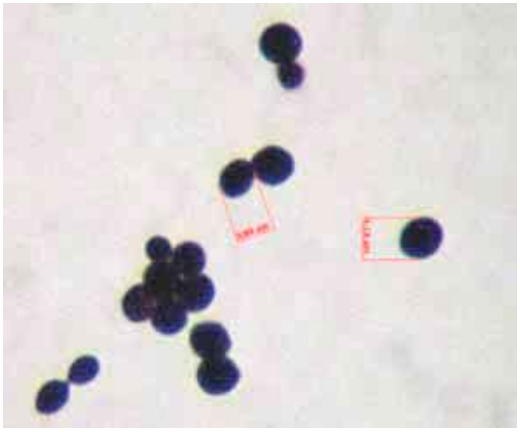


Рис. 2. Клетки выделенной культуры в поле светового микроскопа при увеличении ×1000

Культура была выделена на среде, содержащей высокую концентрацию Купрум (II) – 700 мг/л – как при использовании хлорида, так и при использовании цитрата. Последующие пересевы культуры на такую же концентрацию токсичного металла подтвердили устойчивость штамма как на агаризованной среде, так и в жидкой. Интересным является факт устойчивости штамма дрожжей к одинаковой концентрации Купрум (II) при использовании разных соединений – хлорида и цитрата. Ранее было показано, что хлорид Купрум (II) оказывает более губительное действие на бактерии карстовых

полостей по сравнению с цитратом [11]. В случае же дрожжей такой закономерности не наблюдается, что, вероятно, может быть связано со строением клеточной стенки микроорганизмов, а также эффлюкс-системами [2,4].

Известно несколько механизмов устойчивости микроорганизмов к Купрум (II):

1) восстановление катиона на поверхности цитоплазматической мембраны до нерастворимых и, таким образом нетоксичных соединений, например, Cu_2O или Cu^0;

2) образование нерастворимых комплексов Cu^{2+} с экзометаболитами микроорганизмов, например, купрум-белковые комплексы;

3) сорбция Cu^{2+} вследствие замещения Mg^{2+} в клеточной стенке и т.д. [12].

Благодаря толстой клеточной стенке дрожжи могут эффективно аккумулировать двухвалентные катионы металлов [2]. О накоплении Cu^{2+} свидетельствовало изменение цвета биомассы штамма после его контрастирования сероводородом. После обработки H_2S биомасса дрожжей, выросших в присутствии Cu^{2+}, приобрела темно-коричневый цвет, характерный для CuS. Металлрезистентные микроорганизмы, накапливающие металлы в биомассе, являются перспективными для создания новых биотехнологий очистки почв и сточных вод от токсичных металлов.

Выводы. Штамм дрожжей, выделенный из глин карстовой полости Мушкарова Яма, вследствие своей высокой устойчивости к Купрум (II) и способности взаимодействовать с ним, может быть использован для создания новых природоохранных биотехнологий для очистки металлсодержащих сточных вод.

Авторы выражают признательность группе украинских спелеологов и лично Ольге Ткачевой (Украинская спелеологическая ассоциация) за помощь в отборе образцов глин карстовых полостей, а также Покалюку В.В. и Бондарь К.М. за организацию экспедиций.

Список литературы

1. *Issazadeh K. E.* Heavy metals resistance by bacterial strains // Annals of Biological Research. – 2013. – 4(2). – P. 60-63.

2. *Blackwell K. J., Singleton I., Tobin J. M.* Metal cation uptake by yeast: a review // Appl Microbiol Biotechnol. – 1995. – 43. – P. 579-584.

3. *Gadd G. M.* Accumulation of metals by microorganisms and algae // Biotechnology. – 1988. – 6. – P. 401-433.

4. *Ochoa-Herrera V., León G., Banihani Q., Field J.A., Sierra-Alvarez*. Toxicity of copper (II) ions to microorganisms in biological wastewater treatment systems // Science of the Total Environment. – 2011. – 412-413. – P. 380-385.

5. *Olga Suslova, Vera Govorukha, Oksana Brovarskaya, Nadezhda Matveeva, Hanna Tashyreva, Oleksandr Tashyrev*. Method for determining organic compound concentration in biological systems by permanganate redox titration // Int. J. Bioautomation. – 2014. – 18(1). – P. 45-52.

6. *Trevors T.J.* Copper resistance in bacteria // Microb.Sci. – 1987. – 4. – P. 29-31.

7. *Таширев А.Б., Рокитко П.В., Левишко А.С., Романовская В.А., Таширева А.А.* Устойчивость к токсичным металлам хемоорганотрофных бактерий, изолированных из антарктических клифов // Мікробіол. журнал. – 2012. – Т.74, № 2. – С. 3-7.

8. *Таширев А.Б., Матвеева Н.А., Романовская В.А., Таширева А.А., Рокитко П.В.* Полирезистентность и сверхустойчивость к тяжёлым металлам антарктических микроорганизмов // Доповіді Національної Академії наук України. – 2007. – № 11. – С. 170-175.

9. *Таширева Г.О., Іутинська Г.О., Таширев О.Б.* Стійкість до іонів Cu^{2+} антарктичних штамів *Enterobacter hormaechei* та *Brevibacterium antarcticum* за різних умов культивування // Мікробіол. журнал. – 2009. – 71, № 4. – С. 3-9.

10. *Таширев А.Б.* Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов // Мікробіол. журнал. – 1994. – 56, № 6. – С. 76-88.

11. *Таширев А.Б., Романовская В.А., Рокитко П.В., Таширева А.А*. Множественная устойчивость к токсичным металлам микроорганизмов антарктических клифов (о. Галиндез) // Укр. антарктичний журнал. – 2011-2012. – №11-12. – С. 212-221.

12. *Таширев А.Б.* Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов // Мікробіол. журнал. – 1994. – 56. – № 6. – С. 76-88.

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ТРЬОХ ПОСТРАДІАЦІЙНИХ ГЕНЕРАЦІЙ *CLADOSPORIUM CLADOSPORIODES* ЗА УМОВ ЛІМІТАЦІЇ ДЖЕРЕЛА ВУГЛЕЦЮ

Андрій Тугай, Тетяна Тугай

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, м. Київ, Україна

Ганна Пономаренко

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. Found that in post-radiation generations control strain *C. cladosporioides* 4061 was observed increase in the content of lipid peroxidation products (LPO) and reduced activity of antioxidant enzymes. In post-radiation generations strain of C. cladosporioides 4 with radioadaptive properties found less pronounced increase in lipid peroxidation, which was accompanied by a significant increase in SOD activity.

Keywords: POL products, post-radiation generations of micromycetes, antioxidant enzymes.

Вступ. Мікроміцети є постійними компонентами біогеоценозів, первинною ланкою багатьох трофічних ланцюгів, регуляторами переміщення поживних речовин та радіонуклідів у ґрунті [1, 2]. Як було встановлено, у 80% мікроміцетів, що були виділені з Зони відчуження ЧАЕС, було виявлено радіоадаптивні властивості, які полягали у позитивній реакції на дію значних доз опромінення [3, 4]. Основними механізмами, що забезпечують підтримку окисно-відновлювального гомеостазу в нормі є злагоджене функціонування системи перекисного окиснення ліпідів та ферментативної складової їх антиоксидантної системи [5]. Мікроміцетам притаманна швидка зміна

генерацій, тому вони є зручною моделлю для вивчення віддалених ефектів хронічного опромінення у низці пострадіаційних генерацій. Не вивченим є питання щодо можливого наслідування більшої резистентності у пострадіаційних генераціях штамів з радіоадаптивними властивостями, яка може проявлятися у активізації процесів окисно-відновного гомеостазу порівняно з пострадіаційними генераціями контрольного штаму, який не мав таких властивостей. Особливої уваги заслуговує дослідження впливу на функціонування цієї системи одночасно двох факторів – опромінення на лімітації джерел живлення.

Мета роботи. Порівняльне вивчення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту у трьох генерацій *C. cladosporioides* контрольного штаму та з радіо адаптивними властивостями, за умов лімітації джерела вуглецю.

Матеріали і методи дослідження. Об’єктами дослідження були три генерації (не опромінені та пострадіаційні) двох штамів *C. cladosporioides* (Fr.) de Vries з колекції культур мікроміцетів відділу фізіології та систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Штам *C. cladosporioides* 4061 – контрольний, що був виділений з ґрунту у Київській області у 2003 році за фонового рівня радіоактивного випромінювання 12 мкР/год (8,6 10-13 Кл/кг*с) та *C. cladosporioides* 4 – опромінений, що був виділений з ґрунту 10-ти км зони ЧАЕС у 1986 році з потужністю експозиційної дози та проявляв радіоадаптивні властивості. Отримання пострадіаційних генерацій проведено як описано [10].

Вміст дієнових кон’югатів (ДК), в міцелії оцінювали за показами спекторофотометра при $\lambda = 232$ нм, $\lambda = 220$ нм. Визначення вмісту малонового альдегіду (МДА) проводили за реакцією с тіобарбітуровою кислотою [6].

Величину активності супероксиддисмутази (СОД) визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 406 нм за ступенем гальмування реакції окиснення кверцетину [7].

Величину каталазної активності визначали спектрофотометричним методом, суть якого полягає у здатності пероксиду водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [8].

Вміст білка визначали за методом Бредфорда [9].

Отримані в роботі дані оброблені статистично з використанням математичних методів обробки результатів вимірів для малих вибірок з залученням пакетів програм Microsoft Excel та Statistica 6.0.

Результати і обговорення. Активація перекисного окислення ліпідів є одним з універсальних наслідків дії хронічного опромінення, зокрема, на мікроміцети, при цьому продукти перекисного окислення можуть бути як «індикаторами», так і «первинними медіаторами» стресу, як особливого стану клітини, який може привести до збільшення її резистентності. Стадію тривоги супроводжує первинна активація прооксидантних процесів, яка швидко змінюється реактивною мобілізацією антиоксидантних резервів, зокрема, активності ферментів антиоксидантного захисту.

Вивчення віддалених наслідків впливу хронічного опромінення на мікроміцети було проведено у трьох генерацій *C. cladosporioides* – контрольного штаму *C. cladosporioides* 4061 та штаму з радіоадаптивними властивостями *C. cladosporioides* 4*,* які було отримані в лабораторних умовах з допомогою раніше створеної модельної системи, як описано раніше [10].

На першому етапі було досліджено рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активності ферментів антиоксидантного захисту у неопромінених генерацій досліджуваних штамів. Дані приведені у табл.1.

Показано, що більш виражені зміни вмісту як дієнових коньюгатів так малонового діальдегіду виявлені у генераціях контрольного штаму, крім того у них виявлено більшу активність супероксиддисмутази. Слід відзначити, що у генераціях штаму з радіоадаптивними властивостями рівень каталазної активності та вмісту дієнових коньюгатів був практично однаковим у всіх трьох досліджених генерацій.

Таблиця 1. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту у трьох генерацій штамів Cladosporium cladosporioides

Назва штаму	Генерації	Вміст дієнових коньюгатів ум. од.	Вміст малонового діальдегіду, мкмоль	СОД активність, ум. од./мг білка	Каталазна активність, мкмоль/мг білка
Cladosporium cladosporioides 4061	Перша	2±0,1	0,08±0,004	240±12	0,16±0,008
	Друга	3±0,15	0,04±0,002	160±8	0,07±0,0035
	Третя	5±0,25	0,06±0,003	225±11,3	0,055±0,0028
Cladosporium cladosporioides 4	Перша	1±0,05	0,07±0,0035	60±3	0,055±0,0028
	Друга	2±0,1	0,05±0,0025	48±2,4	0,057±0,0029
	Третя	2±0,1	0,02±0,01	200±10	0,06±0,003

При дослідженні змін у про-антиоксидантній системі пострадіаційних генерацій *C. cladosporioides* всі досліджені параметри у наведено у відносних величинах до неопромінених генерацій, у яких вони були прийняті за 100%, для того щоб максимально визначити вплив лише одного фактору – попереднього опромінення (табл.2).

Таблиця 2. Відносний вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та відносна активність ферментів антиоксидантного захисту у трьох пострадіаційних генерацій штамів Cladosporium cladosporioides

Назва штаму	Генерації	Вміст дієнових коньюгатів, %	Вміст малонового діальдегіду, %	СОД активність, %	Каталазна активність, %
Cladosporium cladosporioides 4061	Перша	50	213	21	50
	Друга	167	150	16	93
	Третя	40	550	67	118
Cladosporium cladosporioides 4	Перша	100	129	258	127
	Друга	150	120	208	123
	Третя	100	600	238	83

Встановлено, що у пострадіаційних генерацій контрольного штаму *C. cladosporioides* суттєво (у кілька разів) підвищувався рівень малонового діальдегіду, а рівень дієн нових коньюгатів у першій та третій генераціях був нижче, ніж у неопроміненої генерацій. При цьому виявлено зменшення активності СОД у всіх досліджених генераціях, і каталазної активності у першій генерації. У пострадіаційних генерацій штаму з радіо адаптивними властивостями виявлено збільшення дієн нових коньюгатів у другій генерації та малонового діальдегіду у всіх трьох. Таке збільшення супроводжувалось і суттєвим підвищення СОД активності у всіх трьох досліджених генераціях, і збільшенням каталізної активності у першій та другій генераціях.

Висновки. Встановлено, що у пострадіаційних генерацій контрольного штаму *C. cladosporioides* 4061 суттєво підвищується вміст малонового діальдегіду (МДА). Показано, що у пострадіаційних генерацій контрольного штаму знижено активність СОД у порівнянні з неопроміненими генераціями. У пострадіаційних генерацій штаму *C. cladosporioides* 4 виявлено підвищення МДА, але менш виражене, ніж у пострадіаційних генерацій контрольного штаму. Показано, що активність СОД у пострадіаційних генерацій штаму з радіоадаптивними властивостями зростає більш ніж у 2 рази.

Список літератури

1. *Apel K., Hirt H.* Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. − 2004. − Vol. 55. − P. 373−399.

2. *Ананьева Н. Д., Сусьян Е. А., Чернова О. В. и др.* Соотношение грибов и бактерий в биомассе разных типов почв, определяемое селективным ингибированием // Микробиология. 2006. Т. 75, № 6. С. 807□813.

3. *Тугай Т. И., Жданова Н. Н., Желтоножский В. А. и др.* Проявление радиоадаптивных свойств у микроскопических грибов, длительное время находившихся на территориях с повышенным радиационным фоном после аварии на ЧАЭС // Радиац. биология. Радиоэкол. 2007. Т. 47, № 5. С. 543□549.

4. *Tugay T., Zhdanova N. N., Zheltonozhsky V. A. et al.* The influence of ionizing radiation on spore germination and emergent hyphal growth response reactions of microfungi // Mycologia. 2006. Vol. 98, № 4. P. 521527.

5. *Барабой В. А.* Біоантиоксиданти. – К.: Книга плюс. – 2006. – 461с.

6. *Орел Н.М.* Биохимия мембран: метод. пособие к лабораторным занятиям для студентов биологического факультета спец. 1-31 01 01 Биология. – Мн.: БГУ, 2010. – 28с.

7. *Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В.* Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. 1990. Т. 36, № 2. С. 8891.

8. *Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. и др.* Методы определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. №1. С. 1619.

9. *Bredford M. M.* A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein – Dye Binding // J. Analytical Biochemistry. 1976. Vol. 72. P. 248254.

10. *Тугай Т.І., Тугай, А.В., Желтоножский В.А. та ін.* Закономірності впливу низьких доз опромінення на мікроскопічні гриби // Ядерна фізика та енергетика. − 2012. − Т. 13, № 4, − С. 396−402.

ПЕРСПЕКТИВИ ВИРОБНИЦТВА Й ВИКОРИСТАННЯ ГІДРОЛІЗНОГО БІОЕТАНОЛУ В УКРАЇНІ

Вячеслав Харченко

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. Nowadays, cars are able to run using 100% ethanol fuel or a mix of ethanol and gasoline (aka flex-fuel). It is commonly made from biomass such as corn. Also be used plants such as grasses, wood or agricultural waste material. By-products such as straw or wood chips can be converted to ethanol.

Keywords: ethanol fuel, biomass, cellulosic ethanol.

Вступ. Однією із проблем людства є позбавлення економіки надмірної залежності від нафти і пального, виробленого з неї. На думку експертів, це можна зробити за рахунок широкомасштабного впровадження нових технологій та альтернативних видів палива, зокрема алкоголемістких речовин. Як основний альтернативний енергоносій, що може використовуватися як пальне для автомобілів з бензиновими двигунами, розглядається етанол.

Виробництво біопалива – біоетанолу, етил-трет-бутилового ефіру (ETBE), біодизелю тощо – є пріоритетним напрямом у світовому виробництві моторних палив. Етанол із біомаси, що застосовується як паливо, називають паливним етанолом, або біоетанолом. По суті, він є абсолютизованим етиловим спиртом.

Додавання 10 % біоетанолу до бензину призводить до зменшення викидів аерозольних частинок у повітря на 50 %. Викиди оксиду вуглецю при цьому скорочуються на 30 % [4].

Згідно з директивою Європейського Парламенту та Ради 2009/28/ЄС країни Євросоюзу мають до 2020 року наростити частку біопалива у загальному споживанні призначених для транспортної сфери бензину та дизельного палива до 10 % [2]. Укладаючи угоду про Асоціацію України з ЄС на таку директиву має зважати і наша держава. Зараз частка біоетанолу в автомобільному паливі країн Євросоюзу складає близько 5,75 %, а в українському – менше 1 % [4].

Найпоширенішим методом виробництва біоетанолу є метод гідролізу полісахаридів до простих цукрів: мальтози – з крохмалю зернових і картоплі, сахарози – з меляси і буряків, а також целюлози з деревини. У меншому масштабі застосовують процеси гідролізу целюлози з геміцелюлози, а також ензиматичний гідроліз целюлози з використанням лігніну як твердого палива для виробництва тепла під час процесу.

Вдосконалення технології отримання біоетанолу метод гідролізу є важливим завданням природоохоронної біотехнології.

Матеріали дослідження. У світі налічується 575 заводів із виробництва етанолу загальною потужністю 80,6 млн. т. Завдяки додаванню біоетанолу до бензину економія нафти у 2010 році становила 50,7 млн. т, що, наприклад, дорівнює річному споживанню її в Нідерландах і Польщі разом узятих [8].

У даний час у структурі енергетичного балансу України переважає паливо традиційних видів, зокрема – імпортовані нафтопродукти. Це негативно впливає на рівень енергетичної безпеки держави, конкурентоспроможність вітчизняної продукції і стан навколишнього середовища [7].

Станом на серпень 2014 року в Україні працювало вже 13 малих і середніх підприємств з виробництва паливних спиртомістких продуктів з яких 10 було на базі державних спиртзаводів. Проте, введений у серпні 2014 р. в угоду імпортерам та мережевим монополістам акциз на альтернативні бензини у розмірі 99 євро призвів до того, що станом на початок 2015 року виробляти продукцію залишились лише 2 заводи [3].

Спирт технічний гідролізний (ГОСТ 18300-87) високого ступеня очищення. Сировиною для виробництва гідролізного спирту можуть бути відходи переробки деревини, некондиційна деревина, а також відходи переробки сільськогосподарської сировини – кукурудзяний качан, соняшникове лушпиння, бавовникове лушпиння тощо. Тобто, ті матеріали, які містять в значній кількості поліцукри, перш за все целюлозу та геміцелюлозу.

Виробництво передбачає отримання поряд з етиловим – метилового спирту, лігніну, будівельного гіпсу, фурфуролу, рідкої вуглекислоти і кормових дріжджів.

Переваги використання біоетанолу. Спирти та ефіри – одні з визнаних компонентів так званого чистого палива. Спирти додають до бензину безпосередньо чи у переробленому в ЕТБЕ вигляді, чим підвищують ефективність згоряння, знижуючи концентрацію CO_2 у вихлопних газах.

Спиртам притаманне вище октанове число, ніж вуглеводневим компонентам, що дає змогу зменшити або зовсім відмовитись від таких токсичних складників палива: оксиди свинцю та ароматичні вуглеводні.

Теоретично на основі гідролізу лігніно-целюлозної біомаси зі 100 кг деревини можна одержати 50 кг глюкози і 25 кг (35 $дм^3$) етанолу, але в дійсності одержують до 75 % цієї кількості [6]. Тобто – 262-263 л з 1 т деревини.

На виробництво спирту гідролізом деревини потрібно у 6-8 разів більше енергії, ніж при виробництві із меляси. Але сировина – набагато дешевша.

Нині більше половини виробленого у світі етанолу використовується як добавка до пального для двигунів внутрішнього згоряння і лише 15% – для виготовлення алкогольних напоїв.

Додавання етанолу до бензину збільшує октанове число його. Встановлено, що кожні 3 % етанолу, який додається, збільшують октанове число бензину на 1,0-1,5 одиниці.

За іншими даними – додавання до 70-го бензину 10 % об'єму етанолу підвищує октанове число пального до 76, 20 % – до 80, 30 % – до 84, 40 % – до 86, 50 % – до 87. Відомо, що використання бензину з вмістом до 15 % етанолу не потребує зміни конструкції сучасних двигунів внутрішнього згорання і допоміжних приладів до них [1].

Окрім біоетанолу перспективним біопаливом є біобутанол. Біобутанол – це спирт (як і етанол), але з такими техніко-економічними характеристиками, що роблять його значно ефективнішим біокомпонентом палива, здатним, до речі, і вдосконалити суміші спирт-бензин. Біобутанол має низький тиск насиченої пари. Він стійкіший до впливу домішок води у сумішах бензину, а це дає можливість транспортувати і постачати його засобами наявної нині розподільчої інфраструктури постачання палива.

Однією з переваг біобутанолу є й те, що його можна додавати до бензину в більших концентраціях, ніж наявні тепер види біопалива, без проведення обов'язкової модернізації транспортних засобів. Крім того, він забезпечує економніше витрачання палива, ніж бензиновоетанолові суміші, підвищуючи таким чином паливну економічність автомобіля та його пробіг.

Оскільки виробництва біобутанолу й етанолу схожі між собою та використовують однакову вихідну сировину, наявні технічні потужності для випуску етанолу можуть бути переобладнані на роботу з біобутанолом.

Кожний декалітр етанолу дозволяє заощадити більше 2,5 декалітрів сирої нафти, а кожний декалітр етанолу, що додається до низькооктанового бензину, заощаджує 1,6 декалітрів бензину.

Через те, що для газохолу (суміш етанолу з бензином) використовується низькоякісний бензин, вихід якого із сирої нафти є більшим, ніж високоякісного, застосування газохолу сприяє більш повному використанню нафти.

Світовий досвід використання біоетанолу. Світове виробництво етанолу у кінці XX ст. становило близько 32 млрд. л. Із них 4 млрд. л – харчового етанолу, 8 млрд. л – для хімічної промисловості, 20 млрд. л – паливного. Лише 7 % загальної кількості етанолу було отримано методом хімічного синтезу, а 93 % – дріжджовою ферментацією цукру і зерна.

Обсяги виробництва харчового спирту залишаються незмінними від 1975 року, тоді як паливного етанолу – зросли від 2 до 20 млрд. л у 1998 року і до 51 млн. $м^3$ (51 млрд. л) у 2006 [1].

У 2001 р. дві комісії ЄС прийняли Директиви щодо використання біопалива країнами цього об'єднання, – так звані "біодирективи" про обов'язковість вмісту біопалива у традиційному пальному для транспорту. З'ясовано, що майже всі зареєстровані в ЄС транспортні засоби технічно придатні для використання палива з добавкою до 15 % біоетанолу або ЕТБЕ.

Вже нині до 40% пального в США містить певну кількість етанолу, що є національним продуктом, сировина для якого виробляється американськими фермерами. З огляду на його безпечність для довкілля, меншу вартість

передбачається істотно збільшити обсяги його виробництва та створити необхідну інфраструктуру для його масового використання споживачами.

Перехід на альтернативне паливо не вимагає від держав значних бюджетних коштів для розвитку відповідної інфраструктури та технологій. Необхідно лише створити відповідну законодавчу базу, яка, зокрема, змусила б автовиробників обладнати всі нові автомобілі системою використання різних видів пального (flex fuel system), тобто і звичайного бензину, і сумішей, які б містили до 100 % етанолу або метанолу.

За деякими оцінками, максимальна вартість такого обладнання могла б становити 100 дол. США. З метою реалізації подібної ініціативи, наприклад, Конгрес США закликано прийняти відповідний закон (Flex Fuel Mandate).

Майже половина всього обсягу палива, що продається нині в США, містить 10 % етанолу. У такий спосіб фактично половина енергетичного ринку палива “захоплена” цим товаром. У США пальне марки Е-85, що означає суміш із 85% етанолу та 15% звичайного бензину, реалізується більше, ніж на 1 тис. автозаправних станцій по всій країні.

Перспективи виробництва біоетанолу в Україні. Україна має перспективи щодо формування ринку біоетанолу. Сировиною для паливного етанолу може бути меляса (цукрові буряки), зернові культури, картопля, фрукти, спеціальні технічні культури.

Експерти доводять, що нині не потрібно неодмінно будувати нові заводи для виробництва біоетанолу. Потрібно, насамперед, переобладнати частину спиртових заводів та освоїти технологію комплексної переробки біосировини.

При створенні заводів біоетанолу акцент слід перенести на мінімізацію витрат енергії, оскільки супутні домішки у паливному етанолі не мають принципового значення.

У країнах, де виробництво біоетанолу є достатньо розвиненим, зерно переробляють із використанням комплексних технологій. Вони передбачають виділення білка та жиру із зерна перед подальшим використанням його крохмальної частини у виробництві біоетанолу. Білок та олію використовують

у харчовій промисловості (хлібопекарній, кондитерській тощо), а також для виробництва комбікормів.

Олія також використовується як сировина для виробництва компонентів дизельного палива. Реалізація таких побічних продуктів дає змогу підвищити рентабельність виробництва на 10-12 %.

Ґрунтово-кліматичні умови України є сприятливими для вирощування культур з високим рівнем накопичення енергії біомаси під час вегетації.

В Україні джерела для біопалива можна розташовувати в такій послідовності: кукурудза, тритикале, пшениця, різні види сорго та проса, цукровий буряк, соняшник, ріпак, відходи сільського і лісового господарства, а також міскант, тополя, стебла і лузга соняшника. Безумовно, рекордсменом з накопичення енергії на гектар площі в наших умовах є картопля [5].

Але значні перспективи для біоенергетики в Україні мають деякі нетрадиційні культури. Вони здатні накопичувати велику біомасу, зокрема за рахунок того, що у них фотосинтез відбувається впродовж тривалого періоду – від ранньої весни до пізньої осені, а також швидкорослі деревні породи і нові сорти тополі, верби та інших деревних культур. Із них виробляють етанол методом гідролізу полісахаридів до простих цукрі.

Висновки. Основний альтернативний енергоносій, який може використовуватися як пальне для автомобілів з бензиновими двигунами, – етанол. Виробництво біоетанолу, етил-трет-бутилового ефіру (ETBE) тощо – пріоритетний напрям у світовому виробництві моторних палив. Використання бензину з вмістом до 15 % етанолу не потребує зміни конструкції сучасних двигунів внутрішнього згорання і допоміжних приладів до них.

Однією з найдешевших сировин для виробництва гідролізного біоетанолу є деревина. Але гідроліз деревини потребує багато енергії. Тож, при створенні заводів біоетанолу акцент слід робити на мінімізацію витрат енергії, бо супутні домішки у паливному етанолі не мають принципового значення Використовуючи дешеву сировину і маючи дешеву альтернативну енергію (наприклад, геотермальну) можна досягти високого економічного ефекту.

Список літератури

1. *Дейнеко Л. В.*, *Загній О. Г.* Проблеми виробництва та використання біопалива в Україні // Вісник Сумського державного університету. Серія Економіка. – 2006. – № 1(85) – С. 49-54.

2. Директива Європейського Парламенту та Ради 2009/28/ЄС / Офіційний вісник Європейського Союзу // www.saee.gov.ua/documents/dyrektyva_2009_28

3. Історія розвитку альтернативних палив в Україні // www.ukrfuel.org

4. Перспективи розвитку ринку біоетанолу в Україні // www.saee.gov.ua/ sites/default/files/Schulmeister_bioethanol_1.pdf

5. Постанова НАН України «Про цільову комплексну програму наукових досліджень НАН України “Біомаса як паливна сировина” (“Біопалива”): постанова № 56 від 28.02.2007 р. // www.ittf.kiev.ua/biopalyvo.postanova56.doc

6. *Самойленко А. Г.* Перспективи виробництва біоетанолу в Україні // Агроінком.: міжнар. наук.-вир. жур. – 2009, №1-4, С. 44-46.

7. *Українець А.*, *Хомічак Л.*, *Шиян П.*, *Олійничук С.* Спиртова галузь на шляху до інноваційного розвитку // Харчова і переробна промисловість. – 2007. – № 12. – С. 16-19.

8. *Хареба В. В.* Наукові аспекти виробництва біоетанолу в Україні // www.sugarconf.com/custom/files/ua_2012_04/krugl_stol/179-184.pdf

9. *Шматкова Г.*, *Маховка О.* Інноваційний шлях розвитку // Харчова і переробна промисловість. – 2005. – № 11. – С. 8-11.

ДОДАТКОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ ОКРЕМИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДИТЯЧИХ ЙОГУРТІВ

Вероніка Червецова, Наталя Дрешер, Оксана Груник, Олена Яремкевич, Ольга Швед, Володимир Новіков

Національний університет «Львівська політехніка», м. Львів, Україна

Abstract. An additional study of the individual characteristics of children's industry yogurts, as well as fermantated activity, the content of starch and preservatives, quantitative and qualitative composition of microflora of fermentated beverages obtained on there basis were investigated.

Keywords: yogurts, fermantated activity, lactic bacteria.

Вступ. Кисломолочні продукти з успіхом використовуються у дитячому харчуванні, а також для лікування дітей з дисбактеріозами, тому що в результаті бродіння продукт, що одержується, набуває здатності інгібувати патогенну мікрофлору, прискорювати всмоктування мікроелементів, покращувати перетравлення і засвоєння поживних речовин. Так як протеолітична і ліполітична активність кисломолочних продуктів впливає на розщеплення жирів і білків, що підвищує всмоктування і знижує ймовірність виникнення алергічних реакцій, окрім того, дана група продуктів має знижений вміст лактози, вивчення мікробіології кисломолочних продуктів необхідно для поліпшення процесу їх виробництва і контролю якості та безпечності застосування.

Матеріали і методи дослідження. Об’єктами досліджень були йогурти для дитячого харчування українських виробників: «Агуша» (ПАТ «Вім-Біль-Данн Україна»), «Растішка» (ТОВ «Данон Дніпро»), «Локо Моко» (ТОВ «Молочний Дім»), «Маша та Ведмідь» (ТОВ «Данон Дніпро»), «Яготинське» (ПАТ «Яготинський маслозавод», «Яготинське для дітей»).

Зброджувальну активність на наявність життєздатних молочнокислих бактерій перевіряли шляхом внесення 5% посівного матеріалу (промислового йогурту) у стерильне молоко. Після інкубації при 30 ^{0}С протягом 24 год. вимірювали загальну кислотність згідно стандартної методики [1]. Органолептичні властивості отриманих напоїв визначали на групі добровольців.

Визначення кількісного складу кислотоутворювальних бактерій проводили шляхом посіву отриманих напоїв на сусло-агар (6^0Б) з додаванням 1-2 % $CaCO_3$. Після інкубації при температурі 30^0С підраховували кількість колоній, навколо яких утворилися прозорі зони.

З отриманих напоїв виготовляли мікроскопічні препарати, забарвлені метиленовим синім, які розглядали в світлопольному мікроскопі «БІОЛАМ».

Наявність крохмалю в промислових йогуртах визначали згідно класичної методики з розчином Люголя.

Дослідження на наявність в йогуртах консервантів проводили наступним чином: в чашку Петрі з 20-30 мл промислового йогурту вносили 1 мл суспензії цвілей *Aspergillus niger* концентрації 10^5–10^6 КУО/мл. Кількість спор підраховували в камері Гаряєва – Тома. Після інкубації протягом 48-72 год. відзначали інтенсивність росту плісеневих грибів у субстраті.

Як контроль для всіх дослідів застосовували фермерське коров’яче молоко, яке зброджувалось природним шляхом спонтанною мікрофлорою.

Результати і обговорення. Робота проводилась в рамках навчальних курсів «Загальна мікробіологія та вірусологія» для студентів спеціальності «Біотехнології та біоінженерія» та «Мікробіологія» для студентів напряму «Товарознавство і торгівельне підприємство». Вибір взірців для дослідження обумовлений соціальним опитуванням про найбільш вживані продукти в межах цієї побутової групи.

В результаті пересіву промислових йогуртів на стерильне молоко були отримані ферментовані напої, органолептичні властивості яких наведені у таблиці 1.

Таблиця 1. Органолептичні властивості ферментованих напоїв

№	Назва закваски / Виробник		Органолептичні властивості напоїв			
			Смак	Кислотність	Густина	Колір
1	Йогурт «Агуша» з наповнювачем полуниця-банан	ПАТ "Вімм-Білль-Данн Україна"	Ніжний смак	Некислий	Дуже густий	Білий
2	Йогурт «Растішка» з наповнювачем полуниця	«Данон», ТОВ «Данон Дніпро»	Легкий присмак полуниці	Не надто кислий	Густий	Світло-рожевий
3	Йогурт «Локо Моко» зі смаком полуниці	ТОВ «Молочний двір»	Легкий присмак полуниці	Некислий	Дуже густий	Білий
4	Йогурт «Маша та Ведмідь» з наповнювачем полуниця	ТОВ «Данон Дніпро»	Солодкий, сильний запах ароматизатора	Некислий	Густий	Білий
5	Яготинське для дітей, «Йогурт, малина-шипшина»	АТ «Молочний альянс», Завод «Яготинське для дітей»	Без смаку	Некислий	Густий	Білий

Таким чином, анонімне незалежне оцінювання отриманих ферментованих напоїв показало, що при першому пасажі всі вони задовольняли органолептичним вимогам до молочнокислих продуктів харчування. Наявність додаткових смакових показників може пояснюватись внесенням нативних заквасок.

Проведено вивчення динаміки зростання кислотності ферментованих напоїв (табл.2).

Таблиця 2. Динаміка зростання кислотності ферментованих напоїв

Назва закваски		Титрована кислотність ферментованих напоїв, T^0					
		0 год.	2 год.	4 год.	6 год.	8 год.	24 год.
1.	«Агуша»	15	18	20	31	63	114
2.	«Растішка»	14	16	19	32	54	98
3.	«Локо Моко»	15	17	19	30	57	96
4.	«Маша та Ведмідь»	16	17	21	36	53	115
5.	«Яготинське»	16	18	22	37	59	112

Як видно з табл. 2, всі промислові йогурти містили активні молочнокислі бактерії, в результаті чого через 24 год. ми отримали ферментовані продукти із задовільними з точки зору технічних умов властивостями. Кількісний склад кислотоутворювальних бактерій коливався в межах 10^6–10^7 КУО/мл, що відповідає нормам.

Виготовлення мікроскопічних препаратів із готових молочнокислих продуктів пов’язано з певними труднощами. Виявилось, що на жодному з досліджуваних взірців не було зазначено якісний склад внесених мікроорганізмів. Ми провели мікроскопування отриманих ферментованих напоїв і встановили, що при засіві йогуртом «Агуша» досліджуваний напій містив бактерії родів *Lactobacillus* та *Streptococcus*.

Для визначення крохмалю в дитячих йогуртах використовували розчин Люголя. Контролем слугував домашній кисломолочний продукт. Отримані дані

представлені на рис. 1. З рисунку видно, що найбільшу кількість крохмалю містив йогурт «Локо Моко», однак треба віддати належне, що виробники надали дані про те, що до складу цього продукту входить кукурудзяний крохмаль.

Рис. 1. Визначення наявності крохмалю в йогуртах

«Агуша» *«Растішка»* *«Локо Моко»*

«Маша та Ведмідь» *«Яготинське»*

Рис. 2. Ріст плісеневого гриба *A. niger* у досліджуваних йогуртах

Наявність консервантів у продуктах дитячого харчування вважається недопустимою. Ми перевірили це із застосуванням запропонованого нами несертифікованого методу, виходячи із припущення, що присутність консервантів буде гальмувати ріст цвілей. Певний об'єм досліджуваних йогуртів засівався плісеневим грибом *Aspergillus niger*, взірці витримувалися в термостаті 3 доби до появи чорного кольору на поверхні субстрату внаслідок розвитку цвілі. Результати дослідження представлені на рисунку 2.

Висновки. Проведені дослідження дозволили визначити деякі мікробіологічні та фізико-хімічні характеристики промислових йогуртів для дитячого харчування, а також отриманих на їхній основі ферментованих напоїв. Одержані дані можуть бути застосовані для інтенсифікації методів контролю в промисловості, а також для проведення науково-дослідних та лабораторних робіт з дисципліни «Мікробіологія».

Список літератури

1. *Кравців Р. Й., Цісарик О. Й., Параняк Р. П., Дроник Г. В., Островський Я. Ю.* Біохімія молока. Практикум – Львів: ТеРус, 2000. – 150 с.

2. *Ладодо К.С., Боровик Т.Е., Рославцева Є.А.* Использование продуктов-пробиотиков в лечебном питании детей // Мат. Всерос. конференции «Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека». М., 21-23 апреля 1999. - с.56-57.

3. Технология молока и молочных продуктов / Г.В. Твердохлеб, З.Х. Диланян, Л.В.Шилер, Г.Г. Чекулаева. – М.: Агропромиздат, 1991. – 463 с.

ПЕРСПЕКТИВА ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ БІОІНЖЕНЕРНИХ СТАВКІВ ДЛЯ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ ОЧИЩЕННЯ ПОБУТОВИХ СТОКІВ

Олекса Швед, Катерина Березюк, Наталія Стадницька, Софія Василюк, Ольга Швед, Володимир Новіков

Національний університет "Львівська політехніка", м. Львів, Україна

Annotation. The efficiency of the use of phytoremediation to near-natural wastewater treatment systems to develop an integrated biotechnology treatment of domestic sewage from symbiotic microorganisms, especially anammox bacteria and higher aquatic plants from the self plant communities in the next growing cycle when using phitoremediation bioengineering supply Constructed wetlands (CW) to promote biosafe ecological restoration of the biological balance of aquatic ecosystems.

Keywords: phytoremediation, anammox bacteria, Constructed wetlands (CW)

Вступ. Аналітичний аналіз результатів сучасного підходу до біобезпечного використання водних біоресурсів при скиданні стічних побутових відходів показав, що в масштабі малих міст з врахуванням економічних та кліматичних умов України, при використанні високотехнологічних та близьких до природних технологій очищення побутових стічних вод найбільш перспективною для застосування є технологія біоінженерних ставків з горизонтальним підповерхневим потоком стічних вод. В Україні досліджувалися і впроваджувалися для очищення стічних вод біоінженерні очисні споруд (наукова група Захарченко М.А.) та біоінженерні споруди типу Constructed Wetlands, використання яких з додатковим підвищенням ефективності видалення сполук азоту з побутових стоків сприяло би поліпшенню екологічного стану довкілля в регіоні.

Для забезпечення раціонального поверхневого водовикористання та біомоніторингу за просторовою і часовою зміною біоіндикаторних компонентів

водної екосистеми, вважаємо, що ефективним було б дослідження симбіозу мікрофлори (фіто-, бактеріо-, зоопланктон та бентос) і вищих водних рослин (фітоценоз) та оцінення самовідновлення фітоценозів у наступному вегетаційному циклі через запровадження комплексних біоінженерних ставків з фіто- та анамокс-ремедіацією, що сприяло би відновленню біологічного балансу водної екосистеми.

Мета дослідження. Вивчення впливу вищих рослин на процес біоочищення з застосуванням комплексного відновлення мікробного ремедіанту анамокс-бактерій та фіторемедіантів вищих рослин і розроблення загальної схеми очищення на основі біоінженерних ставків за принципами сталого розвитку.

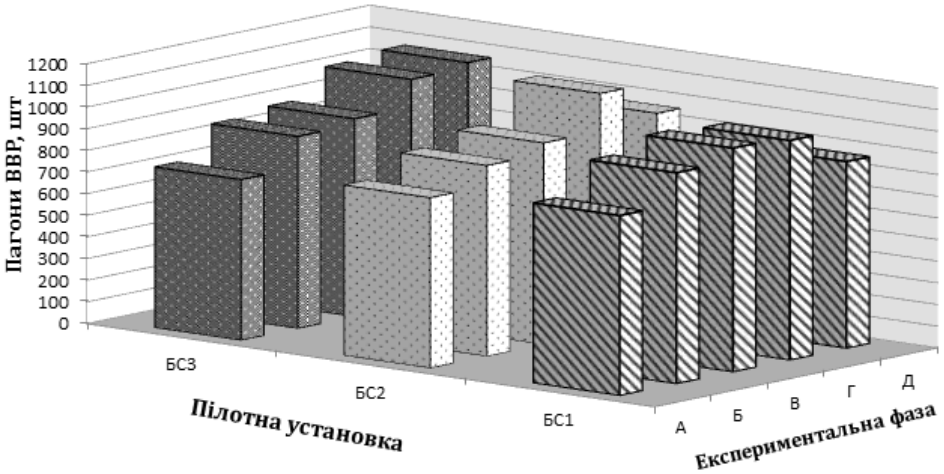
Матеріали і методи дослідження. Для проведення пілотних експериментів використовували типові багаторічні вищі водні рослини, що характерні для водно-болотних угідь помірного кліматичного поясу, які добре підходять для експериментів в дослідних приміщеннях на пілотних біоінженерних ставках. Мета-аналіз, динамічні та статистичні методи аналізу.

Результати і обговорення. Вплив вищих водних рослин (ВВР), зокрема ситника розлогого (*Juncus effusus*) з оптимальним розміром (висота 0,5 – 1,2 м), на ефективність очищення стічних вод з високим вмістом азоту вивчали на пілотних біоінженерних ставках в умовах, характерних для водно-болотних угідь.

Динаміку росту і відмирання вищих водних рослин (основану на підрахунку кількості пагонів) у пілотних експериментальних установках протягом різних фаз експерименту (фази А-Д) з відповідним навантаженням по азоту подано на Рис. 1.

Протягом фаз А, Б, В та Г спостерігали приріст біомаси ВВР в усіх трьох пілотних біоінженерних ставках. Протягом фази Д (з підвищеним навантаженням по азоту) кількість рослин в установках БС1 та БС2 зменшилась в порівнянні з попередньою в середньому на 14,1 ± 1,2 %. В цей же час

кількість рослин в установці БС3 залишилась приблизно на тому ж рівні (незначний приріст на 2,2 %).



	А	Б	В	Г	Д
БС1	831	974	1033	1015	863
БС2	786	880	930	1104	959
БС3	742	887	914	1042	1065

Рис. 1. Динаміка росту ВВР у пілотних установках БС1, БС2 та БС3, що базується на середніх значеннях для кожної з експериментальних фаз

Для більш точної оцінки стану та активності водних рослин розраховували інтенсивність евапотранспірації в експериментальних системах для кожного тижня експерименту на основі даних про водний баланс. Результати усіх вимірювань водного балансу для установок БС1, БС2, БС3 та БС0 представлено на Рис.2.

На основі порівняння даних динаміки евапотранспірації та кількості ВВР в пілотних установках було зроблено припущення про те, що дані параметри, як і в модельних реакторах, пов’язані позитивною лінійною залежністю. Для перевірки даної гіпотези проводили побудову діаграми розсіювання та розрахунок коефіцієнту Пірсона (Рис.3.).

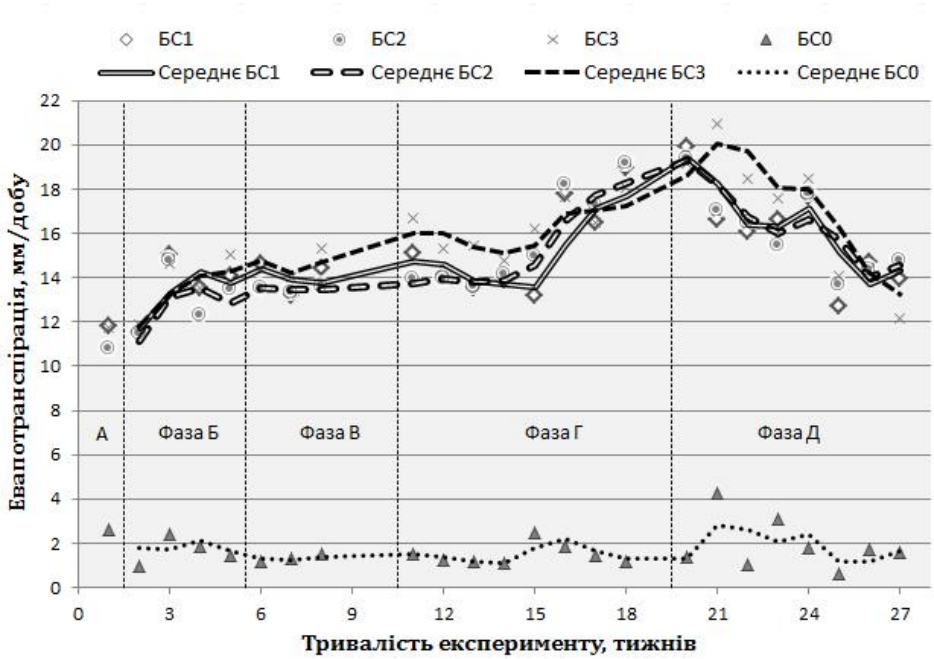


Рис.2. Динаміка евапотранспірації у пілотних біоінженерних ставках БС1, БС2, БС3, БС0.

Примітка. Маркери відображають середні тижневі значення евапотранспірації для кожної з установок. Лінії тренду відображають змінне середнє для двох сусідніх значень ряду даних кожної з установок.

Статистичні дослідження підтверджують існування високої позитивної лінійної залежності між кількістю пагонів та рівнем евапотранспірації в пілотних біоінженерних ставках (коефіцієнт r = 0,957). Зважаючи на факт, що інтенсивність евапотранспірації є додатковим параметром, який відображає стан та активність вищих водних рослин, для дослідження впливу ВВР на ефективність видалення забруднень використовували не лише значення кількості пагонів рослин в установках, але й інтенсивність евапотранспірації.

Графічний аналіз залежності ефективності видалення амонійного та загального азоту від кількості ВВР в установках представлено на Рис. 4.

Зважаючи на технологічні параметри та їх зміну для кожної з експериментальних установок протягом експерименту для аналізу впливу рослин на ефективність видалення забруднень доцільно вибірково порівнювати між собою окремі установки протягом окремих фаз.

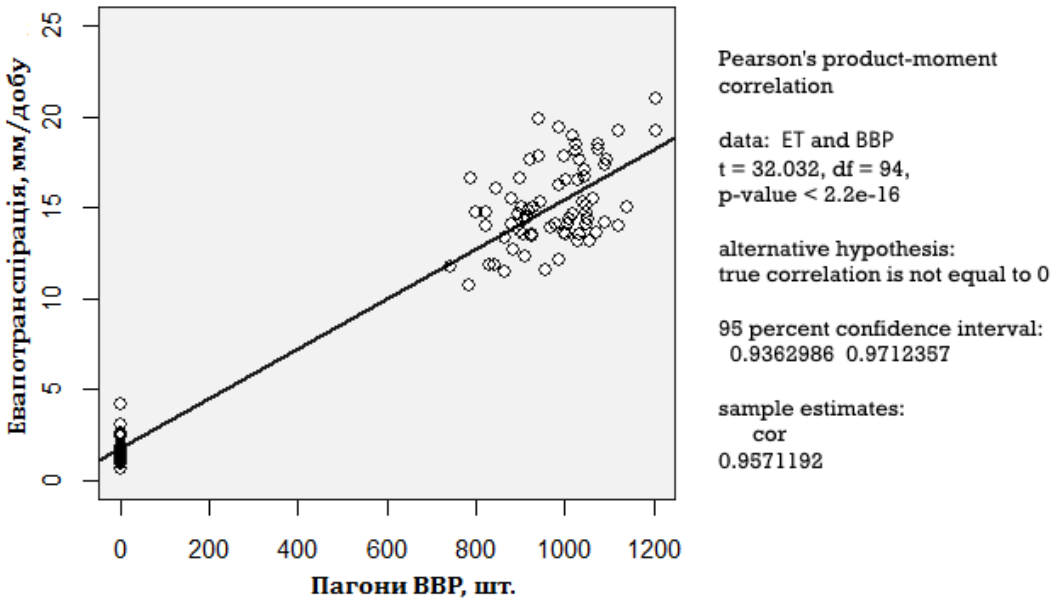


Рис.3. Результати дослідження кореляції між кількістю пагонів ВВР та інтенсивністю евапотранспірації в пілотних експериментальних установках з використанням середовища розробки RStudio

Протягом фази Б усі пілотні біоінженерні ставки отримували стічні води однакового складу. Кількість пагонів ВВР в БС1 була найбільшою серед усіх реакторів і становила у перерахунку на питому густину засадження 5540 пагонів/м^2 (на 5,5 ± 0,1 % більше ніж в кожній з установок БС2 та БС3). Установка БС0 протягом усього експерименту залишалась не засадженою (складалась лише з фільтрувального гравійного шару). Отже, протягом даної фази в усіх трьох установках з рослинами відбувалося практично повне окислення амонійного азоту (ефективність 99,8 ± 0,2 %). Установка БС0 показала значно гірші результати: 42,9 ± 6,2 %.

Ефективність видалення загального неорганічного азоту дещо нижча, зокрема становила 89,9 ± 4,7 %, 87,2 ± 3,2 %, 75,5 ± 12,0 % для БС1, БС2 та БС3, відповідно, і в той же час 22,2 ± 7,7 % для БС0.

Залишковий азот в ОСВ, отриманих з БС1, БС2 та БС3, залишався у формі нітратів, в той час як в ОСВ на БС0 були присутні усі три форми неорганічного іонного азоту (амоній, нітрити та нітрати).

Дані результати свідчать про те, що присутність ВВР в установці є одним з визначальних факторів, які впливають на ефективність видалення азоту в системі. Визначення механізмів видалення забруднень та функції рослин були метою подальших досліджень.

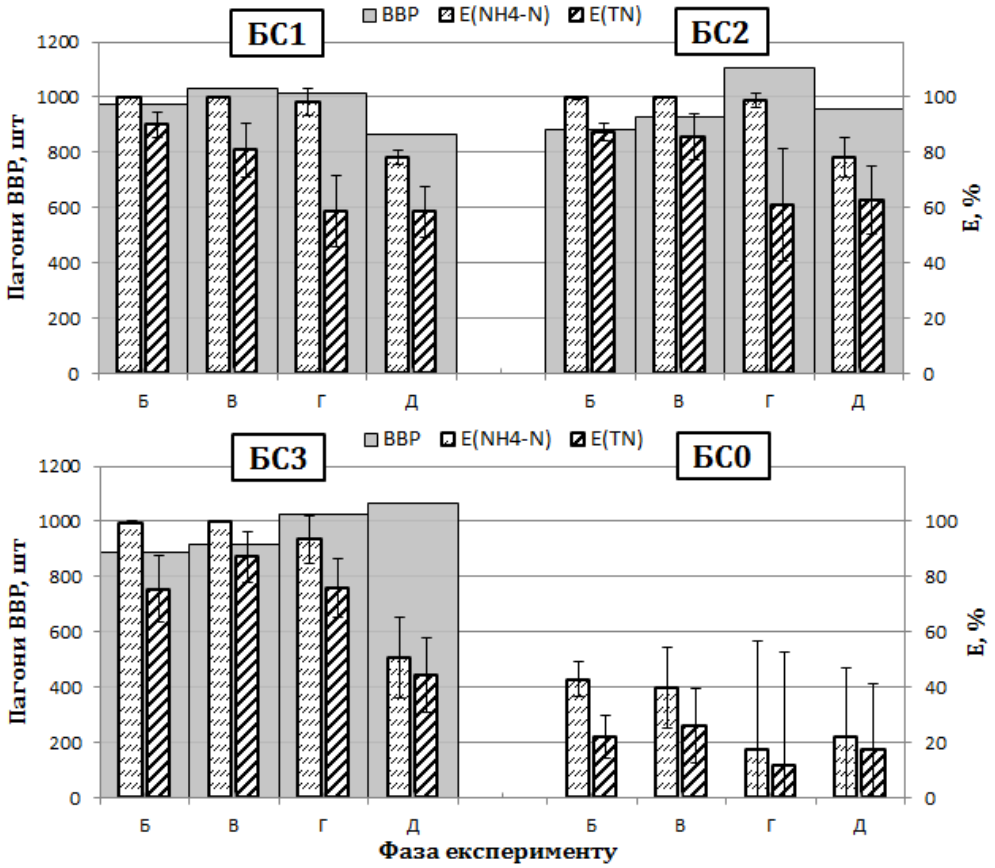


Рис. 4 Залежність ефективності видалення (Е) амонійного (NH_4-N) та загального неорганічного азоту (TN) від кількості рослин (ВВР) у пілотних установках БС1, БС2, БС3, БС0 протягом експерименту

Окремо порівнювали результати для установок БС1 та БС2 протягом фаз Б, В та Г, коли єдиним параметром, який відрізнявся у даних системах, була кількість ВВР. Ефективність видалення амонійного азоту протягом усіх трьох фаз для обох установок в середньому становила 99,5 ± 0,8 %. Ефективність видалення загального азоту з кожною фазою знижувалась (з 88,6 ± 2 % для фази Б до 59,9 ± 1,8 % для фази Г), що може бути наслідком підвищеного

споживання нітратів рослинами при активному рості (одразу після висадки) та зниженням споживання при зупинці росту.

Також однаково змінювали значення параметрів, за винятком кількості рослин, в установках БС3 та БС0 протягом фаз Б, В, Г та Д. Отримані результати для даних установок свідчать про те, що рослини мають дуже великий вплив на процес очищення. Проте, порівняння результатів для усіх установок протягом фази Д показує, що існують також інші важливі чинники, які впливають на процеси видалення забруднень.

Результати видалення алохтонного та автохтонного вуглецю для установок БС3 та БС0 показують, що установка з рослинами здатна видаляти до 100 % органічних забруднень при навантаженнях по органічному вуглецю до 850 мг С/($м^2$·добу), в той час, як установка без рослин показала на порядок гірші результати. Зокрема, середня ефективність по видаленню диметилфенолу для установки БС3 для фаз В, Г та Д становила 98,3 ± 1,8 %, а для установки БС0 – 60,0 ± 8,9 %. Ефективність видалення загального розчиненого органічного вуглецю становила 83,3 ± 6,9 % та 50,0 ± 11,1 %, що свідчить про позитивну роль рослин в даному процесі.

Отримані параметри очищення побутових стічних вод використано для розробки технологічної схеми комплексної біотехнології очищення побутових стоків невеликого населеного пункту малих міст України з застосування бактеріо- та фіторемедіації, яка враховує внесення бактеріального компоненту і вищих водних рослин на біоінженерних ставках.

Одержана в процесі очищення стоків біомаса вищих водних рослин виявилась перспективною в якості палива для когенераційних установок з одержанням електричної та теплової енергії.

Висновки. Отже, вищі водні рослини, безумовно, є одним з ключових складових елементів біоінженерних ставків з горизонтальним підповерхневим потоком стічних вод, які впливають на процес фітоочищення. Використання вищих водних рослин веде до повного окислення амонійного азоту приблизно на 40 % та зменшення загального неорганічного азоту на 60 % вище контролю (залишковий азот у вигляді нітратів може бути усунений з використанням

бактеріоремедіації). Окрім того, установка з рослинами здатна видаляти приблизно на 30 % загальний біоорганічний вуглець, та до 100 % - синтетичних органічних забруднень при навантаженнях по органічному вуглецю в межах 850 мг С/($м^2$·добу).

Розроблено технологічну схему комплексної біотехнології очищення побутових стоків невеликого населеного пункту малих міст України.

Отримана у процесі очищення біомаса вищих водних рослин пропонується як паливо для когенераційних установок з одержанням електричної та теплової енергії.

Список літератури

1. *Shved O.M., Kuschk P., Novikov V.P.* Biotechnology of ammonium-rich wastewater treatment in constructed wetlands // Сучасні досягнення фармацевтичної технології: Матеріали IV н-п. конф. з міжн. уч.- Харків, 2014. – Х.: Вид-во НФаУ,– С. 18.

2. *Гвоздяк П.І., Михайловська М.В.* Порівняльний аналіз методів біологічного очищення стічних вод від сполук азоту // Наукові вісті НТУУ «КПІ». - 2007. - №2. -С.109-117.

3. *М.А.Захарченко*. (УКРНДІЕП). Біоінженерні споруди для очищення побутових стічних вод.

4. *О.К. Видринська, О.М. Швед, З.В. Губрій, В.П. Новіков.* Біоочищення стоків згідно принципів сталого розвитку // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології : Зб. наук. праць IX з'їзду УТГіС -Алушта, 2012 р.– К.: Логос, 2012. – Том 4. – С. 447 – 451.

5. *O. Shved, R. Petrina, V. Chervetsova, V. Novikov.* Enhancing efficiency of nitrogen removal from wastewater in constru-cted wetlands // Східно-Європейський журнал передових технологій. – 2015. – № 3/6(75). – С. 63–68.

6. *Швед О.М., Мозіль Р.І, Петріна Р.О., Швед О.В.,Новіков В.П.* Перспектива застосування днк-аналізу при біоіндикації та біотестуванні біоінженерних ставків // Матеріали X Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» присвяченої 135-й річниці від дня народження Олександра Флемінга НТУУ «КПІ», м. Київ. – 2016.-С.98.

7. *Швед О.М, Петріна Р.О., Яремкевич О.С., Швед О.В., Новіков В.П.* Перспектива застосування біоіндикаторних компонентів біоінженерних ставків //materialsof the XXIIth internayionalScientific and Practical Conference daRostim Biotechnology for agriculture and environmental protection, Odessa -2016. - С.226-227.

СЕКЦІЯ 4. СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКА БІОТЕХНОЛОГІЯ

РАЗЛИЧИЯ В УСТОЙЧИВОСТИ К НЕОНИКОТИНОИДАМ СЕСТРИНСКИХ ЛИНИЙ ТЛЕЙ MYZUS PERSICAE (SULZER, 1776)

Мария Воробьева, Нина Воронова, Ярослав Ковалев

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Abstract. The level of insecticide resistance of laboratory strains of aphids *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) to imidacloprid and thiamethoxam was studied. It was found that the sister lines of *M. persicae* adapted to feeding on different host plants (black radish (*Raphanus sativus* L., 1753), pepper (*Capsicum annuum* L., 1753), carrot (*Daucus carotasub sp. sativus* (Hoffm.) Arcang, 1882) and beetroot (*Beta vulgaris* L.)) show different levels of resistance to neonicotinoids.

Keywords: insecticide resistance, imidacloprid, tiametoxam, aphid clones, *Myzus persicae*.

Введение. В настоящее время на территории Республики Беларусь наиболее часто применяемым способом борьбы с вредителями сельскохозяйственных растений является применение инсектицидов, в частности, из группы неоникотиноидов, которые по своему химическому строению и механизму инсектицидного действия аналогичны природному алкалоиду никотину. Эти препараты рекомендованы для защиты сельскохозяйственных и иных возделываемых культур от вредителей, и внесены в Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Беларуси (http://www.ggiskzr.by/gosudarstvennyj_rees/). Как известно, неоникотиноиды представляют собой группу инсектицидов, выступающих в качестве ингибитора рецепторов ацетилхолина в центральной нервной системе [1]. В последние годы, однако, у некоторых вредителей, в частности тлей, отмечено

повешение устойчивости к этой группе инсектицидов, что обусловлено способностью быстронейтрализовать токсические вещества, попадающие в их организм [2]. Показано, что появление и распространение устойчивых линий приводит к значительному экономическому ущербу при выращивании овощных, плодовых и зерновых культур [3]. В результате возникает необходимость в создании новых химических веществ инсектицидного действия, повышении используемых концентраций, что приводит к росту расходов и усилению инсектицидного пресса на экосистемы. В последствие эти мероприятия могут привести к возникновению серьезных экологических проблем, в частности загрязнению водных экосистем, почв, негативному воздействию на опылителей.

На сегодняшний день в литературе представлена информация о том, что применение инсектицидов приводит не к сокращению, а наоборот, ускорению формирования устойчивости в ряду поколений насекомых-фитофагов.Тли обладают высоким репродуктивным потенциалом и способностью к клональному размножению, что приводит к быстрому отбору устойчивых форм и вытеснению неустойчивых. После химических обработок эти насекомые способны в течение короткого периода восстановить прежнюю численность, формируя ее за счет потомства устойчивых особей, в результате чего встречаемость устойчивых клонов быстро растет во многих регионах мира [4].

В последние годы проблема формирования устойчивости насекомых к неоникотиноидам широко изучается. В литературе существуют сведения о наличии возможной связи между устойчивостью насекомых к инсектицидам и токсичными вторичными метаболитами растений. В случае, когда насекомые в естественных условиях питаются на растениях табака, содержащих никотин в качестве естественного метаболита, эта связь представляется логичной [5, 6]. В этой работе мы поставили целью изучить устойчивость к неоникотиноидам тлей, которые не питались на табаке, однако, поддерживались на растениях с различным составом вторичных метаболитах. В качестве модельного вида мы

выбрали *M. persicae*– это вид тлей с чрезвычайно широким спектром кормовых растений (1327 видов по данным [7, 8], принадлежащим к 109 ботаническим семействам), в число которых входят многие ценные сельскохозяйственные культуры, такие как томаты, перец, картофель, морковь, свекла, бобовые и др.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследований материнская линия была разделена на 4 изолированные сестринские линии в соответствии с 4 разными кормовыми растениями, а именно редькой черной (*Raphanus sativus* L., 1753), перцем овощным (*Capsicum annuum* L., 1753), морковью посевной (*Daucus carotasub sp. sativus* (Hoffm.) Arcang, 1882) и свеклой обыкновенной (*Beta vulgaris* L.). Каждые две недели растения заменяли на свежие для сохранения колонии тлей.

Тестирование проводили в чашках Петри, предварительно выслав дно фильтровальной бумагой. Важным условием являлось поддержание влажности, поэтому фильтровальную бумагу постоянно смачивали каплями дистиллированной воды. В центр чашки Петри клали фрагмент листа моркови размером 2×3 см., который предварительно выдерживали в растворе инсектицида «Биотлин» (действ. вещество имидаклоприд в концентрации 0,1 г/л) или «Актара» (действ. вещество тиаметоксам в концентрации 0,036 г/л) и в дистиллированной воде (в качестве контроля). После этого в каждую чашку Петри аккуратно, с помощью мягкой кисти помещали 5 взрослых партеногенетических самок, собранных с одного кормового растения.

Учет смертности особей проводили через 1 ч., 3 ч., 6 ч., 20 ч. после начала эксперимента. Расчет смертности в опытных вариантах (C) проводили по формуле Аббота [9]:

$$C = \frac{A - B}{100 - B},$$

где А – гибель особей в опыте, %, В – гибель особей в контроле, %.

Всего в эксперименте было использовано 986 особей тлей *M. persicae*, собранных с разных кормовых растений. Среди общей выборки 455 особей

тестировали на устойчивость к инсектициду с действующим веществом имидаклоприд и 531 – тиаметоксам.

Для оценки статистической значимости использовали непараметрический метод множественного сравнения средних и метод Манна-Уитни. Расчеты выполнили в программе STATISTICA.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных экспериментов было обнаружено, что тли, адаптированные к питанию на редьке черной и моркови посевной, демонстрировали максимальный уровень выживаемости, в то время как насекомые из культуры, поддерживаемой на перце овощном – минимальный. На рисунке 1 представлены графики выживаемости тлей *M. persicae* из разных линий в течение 20-ти часового эксперимента.

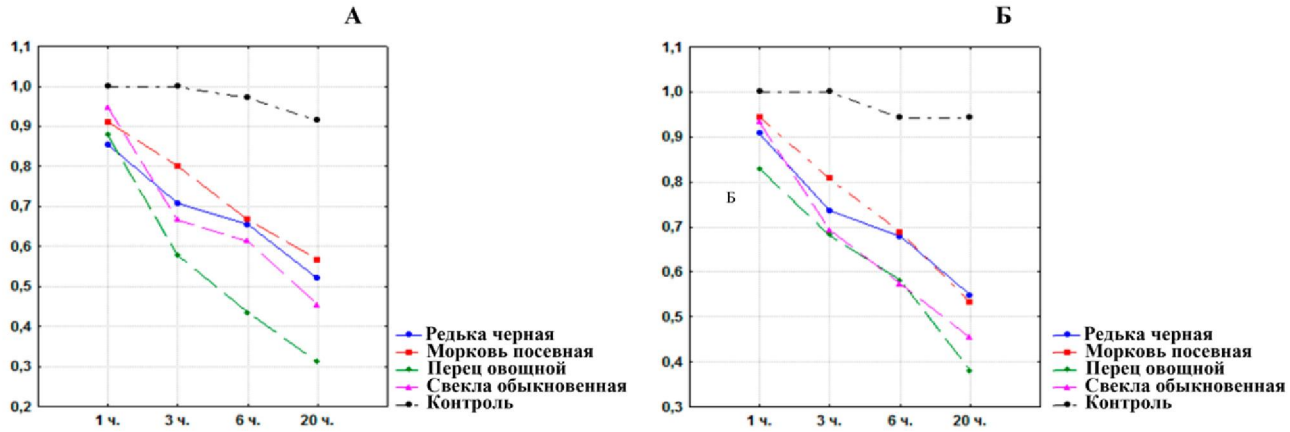


Рис. 1 Временная динамика изменения доли выживших особей *Myzus persicae* в течение эксперимента при воздействии имидаклоприда (А) и тиаметоксама (Б)

На основе имеющихся данных с помощью теста Манна-Уитни был проведен статистический анализ отдельно для экспериментов симидаклопридом и тиаметоксамом. Оказалось, что при воздействии мидаклоприда выживаемость в разных группах различалась статистически значимо (p=0,0035), в то время как в группах, подвергнутых обработке тиаметоксамом, статистически значимых различий между насекомыми из разных культур обнаружено не было (p=0,0975).

Результаты расчета смертности в опытных группах с использованием формулы Аббота представлены на рисунке 2:

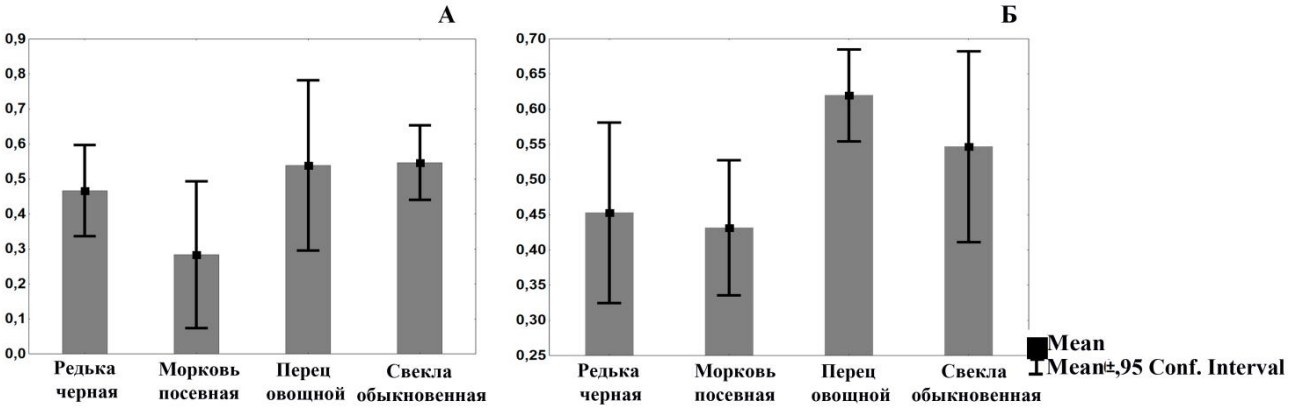


Рис. 2 Смертность в лабораторных линиях тлей *Myzus persicae* с разных кормовых растений при воздействии имидаклоприда (А) и тиаметоксама (Б)

На гистограмме видно, что при обработке тлей инсектицидом с действующим веществом имидаклоприд наиболее высокая смертность отмечена у насекомых, ассоциированных с перцем овощным и свеклой обыкновенной, а наименьшая смертность − у тлей, адаптированных к питанию на редьке черной. При обработке *M. persicae* инсектицидом с действующим веществом тиаметоксам наблюдалась несколько иная картина, а именно, у тлей, питающихся в течение длительного времени на перце овощном регистрируется высокая смертность, в то время как у тлей с редьки черной и моркови посевной – низкая.

Выводы. Таким образом, можно заключить, что лабораторные линии тлей *M. persicae* демонстрировали высокий уровень устойчивости к инсектицидам с действующим веществом из группы неоникотиноидов (имидаклоприд и тиаметоксам). При этом выживаемость тлей зависела не только от времени контакта с инсектицидом, концентрации действующего вещества инсектицида, но и вида растения, с которого были собраны тли *M. persicae.*

Список литературы

1. Moores G.D., Devine G.J., Devonshire A.L. Insecticide-insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase-based resistance in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae* // Pesticide Biochemistry and Physiology. – 1994. – Vol. 49. – P. 114–120.

2. Nauen R., Elbert A. European monitoring of resistance to insecticides in *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) with special reference to imidacloprid // Bull. Entomol.Res. – 2003. – Vol.93. – P. 47–54.

3. Margaritopoulos J. T. [et al.] Insecticide resistance status of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) populations from peach and tobacco in mainland Greece // Pest Manag. Sci. – 2007. – Vol. 63. – P. 821–829.

4. Buga S., Stekolshchikov A.V. Aphids as pests of fruit- and berry-producing plants in Byelorussia // Redia. – 2009. – Vol. 92. – P. 239–242.

5. Castaceda L.E. [et al.] Energetic costs of detoxification systems in herbivores feeding on chemically defended host plants: a correlational study in the grain aphid, *Sitobion avenae* // The Journal of Experimental Biology. – 2009. – Vol. 212. – P. 1185–1190.

6. Nauen R., Denholm I. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: Current status and future prospects // Arch. Insect Biochem. Physiol. – 2005. – Vol. 58. – P. 200–215.

7. Holman J. Host plant catalog of aphids. Palaearctic region // Berlin: Springer Science. – 2009. – 1216 pp.

8. Blackman R.L., Eastop V.F. Aphids of the world trees. An identification and information guide. – London: CAB International, 1994. – 1024 pp.

9. Abbott, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide // Econ. Entomol. – 1925. − № 18. − P. 265–267.

SYNTHESIS OF EXOMETABOLITES WITH GIBBERELLIC ACTIVITY BY PRODUCERS OF SURFACTANTS NOCARDIA VACCINII IMV B-7405, ACINETOBACTER CALCOACETICUS IMV B-7241 AND RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS IMV AC-5017

Daria Havrylkina, Tatiana Pirog
National University of Food Technologies

Natalia Leonova
D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NASU

Abstract. In the article we examined the ability of surfactants producers *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 to synthesize extracellular exometabolites with gibberellic activity under cultivation on various substrates, including toxic industrial waste (fried oil and biodiesel production waste). In the treatment of seedlings of cucumbers grade Nezhinskiye with phytohormone extracts isolated from supernatant (dilution 1:500, 1:600) we observed stimulation of hypocotyl elongation as compared with the seedlings after water treatment.

Keywords: gibberellins, producers of surfactants, toxic waste, phytotests

Introduction. Now surfactants of microbial origin due to the unique qualities are promising for use in many sectors of the economy: to increase oil production, to provision specific taste and structural properties of food and in bioremediation processes of ecosystems [1].

Widespread use of microbial surfactants is constrained by high costs on biosynthesis (materials, energy) and the isolation and purification of the final product. One way to reduce the cost of production is use less expensive substrates, including waste from other industries.

New perspective area of biotechnology is to obtain and use complex microbial preparations with different properties, such as complex microbial surfactants with enzymes, bacteriocins, polysaccharides [2, 3].

Previously the ability of producers surfactant *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 and *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 simultaneously synthesize surfactants and exometabolites with phytohormonal activity (auxins and cytokinins) was established [4].

The aim of this work is to study the possibility of synthesis extracellular compounds with gibberellic activity under cultivation *N. vaccinii* IMV B-7405, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R. erythropolis* IMV Ac-5017 on different carbon substrates, including industrial waste.

Materials and methods. Strain *A. calcoaceticus* IMB B-7241 was grown in a nutrient medium (g/L): $(NH_2)_2CO$, 0,35; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1; NaCl, 1,0; Na_2HPO_4, 0,6; KH_2PO_4, 0,14; autolyzed yeast, 0,5% (v/v); solution of trace elements 0,1% (v/v); pH 6,8−7,0.

Strain *N. vaccinii* IMV B-7405 was cultivated in a synthetic medium (g/L): $NaNO_3$, 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,1; KH_2PO_4, 0,1; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01; autolyzed yeast, 0,5% (v/v); pH 6,8–7,0.

Strain *R. erythropolis* IMV Ac-5017 was grown in liquid mineral medium (g/L): $NaNO_3$, 1,3; NaCl, 1,0; $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, 0,6; KH_2PO_4, 0,14; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,001; pH 6,8–7,0.

Fried and refined sunflower oil (restaurant chain McDonald's, Kyiv), technical glycerol (Komsomolsk biofuel factory, Poltava region), ethanol and hexadecane were used as the carbon source. Substrate concentration was 2% (v/v). Substrate concentration was 2% (volume fraction). Cultivation of bacteria was performed as described in our previous work [4].

Phytohormones with gibberellic nature were extracted from the supernatant culture liquid *N.vaccinii* IMV B-7405, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R.*

erythropolis IMV Ac-5017 after extracting surfactants using mixture of chloroform and methanol in a ratio of 2:1 (Folch's mixture).

Metabolites with gibberellic activity were isolated with ethyl acetate in the ratio 1:1 (v/v) at pH 2.5. The obtained extracts were evaporated at 40−45 °C. Dry residue was dissolved in ethanol and used for physical and chemical analysis of phytohormones. Preliminary purification and concentration of the substances with gibberellic activity performed as described in our previous work [4].

To determine gibberellic activity we used hypocotyls of seedlings of cucumber grade Nezhinskiye by technique Brian's and Lemming's bioassay in the modification Ahnistykova [5]. After germination of cucumber seeds during 3−4 days (temperature 27 °C) hypocotyls with length 2,0 ± 0,2 cm were selected. Hypocotyls were placed in Petri dishes with aliquots of aqueous solutions of extracts at dilutions 1:400, 1:500 and 1:600. After incubation for 1−2 days at 27 °C elongation of hypocotyls was measured and it was compared to controls (treatment with distilled water and a solution gibberellic acid (GA_3) at a concentration of 10^{-5} M).

Greenhouse experiment was conducted to determine the effect of gibberellic nature substances synthesized by *N. vaccinii* IMV B-7405 and *A. calcoaceticus* IMV B-7241 on the plants growing in soil. Greenhouse experiment was carried out in a greenhouse for three months using cucumber seeds grade Nezhinskiye. Before sowing the seeds kept for two hours in solution of extracts of supernatant *N. vaccinii* IMV B-7405 and *A. calcoaceticus* IMV B-7241 at a dilution 1:500. Seeds that kept for two hours in the water and dry untreated seeds were used as control. During the experiment number of fruits, their weight and growth rate of plants were analyzed.

Statistical analysis of experimental data was performed as previously described [4].

Results. It is known that gibberellins characterized by different physiological processes in plants. A typical effect gibberellin causes in plants is lengthening of the stem. Lengthening is based on the spreading cells and increasing of mitotic activity [6].

Treatment of cucumber seedling grade Nezhinskiye with extracts containing substances of gibberellic nature synthesized by *N. vaccinii* IMV B-7405 was accompanied by a positive effect on hypocotyls elongation. Measurement results after 2 days treatment are shown in table 1.

Table 1. Hypocotyls length (cm) of cucumbers grade Nezhinskiye after treatment with extracts obtained from the supernatant culture liquid N. vaccinii IMV B-7405

The growth substrate	Control (water)	Gibberellic acid	Dilution of extract		
			1:400	1:500	1:600
Refined oil	7,52 ± 0,40	8,3 ± 0,20	7,12 ± 0,40	8,07 ± 0,40	8,38 ± 0,38
Waste oil after frying potatoes	7,52 ± 0,40	8,41 ± 0,40	7,74 ± 0,36	8,21 ± 0,30	8,12 ± 0,40
Waste oil after frying meat	7,95 ± 0,25	8,55 ± 0,35	7,75 ± 0,40	8,17 ± 0,40	8,48 ± 0,28

Data presented in table 1 shows that treatment of cucumber seedlings by all studied extracts was accompanied by stimulation of hypocotyls elongation. Higher growth rates observed for the extract obtained from the supernatant culture liquid after cultivation IMV B-7405 strain on waste oil after frying meat.

Should be noted treatment of seedlings with extracts in a dilution 1:400 was accompanied by a minor inhibition of hypocotyls elongation. Therefore in next experiments extracts were used only in dilutions 1:500 and 1:600.

The next step is analyzing the effect on cucumber seedlings of extracts obtained from the supernatant culture liquid *A. calcoaceticus* IMV B-7241 (table 2).

Data presented in table 2 shows that treatment of cucumber seeds by all studied extracts was accompanied by stimulation hypocotyls elongation. The highest growth rates were observed in case of treatment cucumber seedlings with extract containing metabolites synthesized under cultivation *A. calcoaceticus* IMV B-7241 on refined oil.

Further studies have shown that extracts with substances of gibberellic activity isolated from the supernatant culture liquid *R. erythropolis* IMV Ac-5017 also showed a positive effect on hypocotyls elongation. Measurement results after 1 day treatment are shown in table 3.

Table 2. Hypocotyls length (cm) of cucumbers grade Nezhinskiye after treatment with extracts obtained from the supernatant culture liquid A. calcoaceticus IMB B-7241

The growth substrate	Control (water)	Gibberellic acid	Dilution of extract	
			1:500	1:600
Ethanol *	4,26 ± 0,40	4,60 ± 0,40	4,70 ± 0,36	4,84 ± 0,30
Technical glycerol *	4,66± 0,38	5,84 ± 0,30	4,95 ± 0,40	5,28± 0,35
Refined oil **	10,20 ± 0,20	11,40 ± 0,40	11,10 ± 0,32	11,30 ± 0,33
Waste oil after frying meat **	8,90 ± 0,40	9,80 ± 0,35	9,50 ± 0,40	9,08 ± 0,37

Note. Incubation of seedlings after their treatment with relevant extracts was 1 day (*) or 2 days (**)

Table 3. Hypocotyls length (cm) of cucumbers grade Nezhinskiye after treatment with extracts obtained from the supernatant culture liquid R. erythropolis IMV Ac-5017

The growth substrate	Control (water)	Gibberellic acid	Dilution of extract	
			1:500	1:600
Ethanol	4,70 ± 0,20	5,88 ± 0,28	5,58 ± 0,18	6,00 ± 0,30
Hexadecan	5,40 ± 0,40	6,00 ± 0,20	5,70 ± 0,40	5,80 ± 0,40
Refined oil	5,70 ± 0,25	6,54 ± 0,24	6,50 ± 0,30	6,80 ± 0,30
Waste oil after frying meat	5,80 ± 0,40	6,60 ± 0,30	7,20 ± 0,20	6,90 ± 0,30

The highest growth rates observed after treatment of seeds with the extract from the supernatant culture liquid after cultivating strain IMV Ac-5017 on ethanol.

Data are presented in table 1−3 confirm the presence in all studied extracts of substances with gibberellic activity. Should be noted the synthesis of metabolites with gibberellic activity depends on nature of carbon source in cultivation medium *N. vaccinii* IMV B-7405, *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R. erythropolis* IMV Ac-5017.

In the available literature we could not find information about the synthesis of phytohormones, including gibberellins, by producers of surfactants. Meanwhile the ability to synthesize gibberellins found in many microorganisms including fungi genera *Fusarium*, *Sphaceloma* and *Phaeosphaeriae*, bacteria *Leifsonia soli* SE134, that produce gibberellin as the only phytohormone and bacteria genera *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* and *Mesorhizobium*, synthesizing metabolites with gibberellic activity in combination with other phytohormones [6-9].

In the next stage of work we conducted pot experiments using studied extracts. These experiments had to confirm the ability of exometabolites of gibberellic nature synthesized by surfactants producers to stimulate the development of plants growing in the soil. However, they have not given positive results.

We assume that this phenomenon can be caused by the following reasons.

Used for seed treatment extracts had too high concentration of substances with gibberellic activity (dilution 1:500). This concentration was chosen based on the results of phytotests conducted in the laboratory (table 1 and 2). This assumption is based on the literature data about the ability of incentive phytohormones in large quantities cause inhibition of plant growth and development [10].

Another factor that leads to the inhibition of plant growth can be varietal specificity of plants to the test substances of gibberellic nature.

Our further researches will be devoted to identification of these issues.

Conclusion. Thus, for the first time there the possibility of surfactant producers to synthesize extracellular exometabolites with gibberellic activity was established. These results once again confirm made earlier conclusion [4] on the

possibility to develop of technology of complex microbial preparations with different biological properties.

References

1. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century / D.K. Santos [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2016. – V. 17, N 3. doi: 10.3390/ijms17030401.

2. Simultaneous production of detergent stable keratinolytic protease, amylase and biosurfactant by *Bacillus subtilis* PF1 using agro industrial waste / K. Bhangea, V. Chaturvedib, R. Bhatta // Biotechnology Reports. − 2016. – V. 10. – P. 94–104.

3. Simultaneous syntheses of polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* IFO3924 at various temperatures and from various fatty acids / Hori K. [et al.] // Biochem. Eng. J. – 2011. – V. 53, N 2. – P. 196–202.

4. Синтез фитогормонов бактериями *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 – продуцентами поверхностно-активных веществ / Т.П. Пирог [и др.] // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2016. № 1. – С. 111–116.

5. *Муромцев Г.С., Агнистикова В.Н.* Гормоны растений гиббереллины. – М.: Наука, 1973. — 270 с.

6. *Hedden P., Thomas S.G.* Gibberellins in fungi, bacteria and lower plants: biosynthesis, function and evolution / P. Hedden, S.G. Thomas // Annual Plant Reviews. – 2016. – V. 49. – 472 p. doi: 10.1002/9781119210436.ch5

7. Gibberellin production by newly isolated strain Leifsonia soli SE134 and its potential to promote plant growth / S.M. Kang [et al.] // J. Microbiol. Biotechnol. – 2014. – V. 24, N 1. – P. 106–112.

8. *Radhakrishnan R., Lee I.J.* Gibberellins producing Bacillus methylotrophicus KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce / R. Radhakrishnan, I.J. Lee // Plant Physiol. Biochem. – 2016. – V. 29, N 109. – P. 181–189. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.09.018

9. Gebberellin oxidase activities in *Bradyrhizobium japonicum* bacteroids / V. Mendez, M.A. Revilla, P. Bernard // Phytochemistry. – 2014. – V. 98. – P. 101–109.

10. Синтез позаклітинних фітогормонів-стимуляторів бульбочковими та фітопатогенними бактеріями сої / Н.О. Леонова [та ін.] // Доповіді НАН України. – 2013. – № 3. – С. 165–171.

НИЗОВОЙ ТОРФ КАК СУБСТРАТ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРОДУЦЕНТА ЛИПИДОВ *PICHIA ANOMALA* IMB Y-5067

Алена Голимбйовская, Виктория Красинько

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

Анна Андрияш, Наталья Бейко, Елена Тигунова, Сергей Шульга

ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины», г. Киев, Украина

Abstract. The article is devoted to obtaining lipids of microorganisms, which can be as a source of biofuels. Strain Pichia anomala IMB Y-5067 was used for the synthesis of lipids, which was grown on the non-food substrate – grassroots peat. Due to the fact that peat is complex raw material, different methods of treatment of the substrate prior to use was conducted. It has been shown that the optimal method of treatment of raw materials is cavitation, which allows obtaining the maximum accumulation of lipids (28.7 g/l).

Keywords: peat, *Pichia anomala*, yeast, lipids.

Введение. Современный энергетический кризис – одна из главных проблем не только для Украины, но и для всего мира. Проблема энергетической независимости государств может быть решена за счет использования альтернативных источников энергии и, в частности, биотоплива. Биодизель – перспективный альтернативный источник энергии [1,2].

Сырье для биодизеля – жиры и масла растительного, животного и микробиологического происхождения. Технология получения биологического топлива из масел основана на эффекте изменения физико-химических характеристик за счет импульсного многофакторного энергетического воздействия. Традиционная технология получения биологического топлива для дизельных двигателей основана на реакции этерификации масла и метилового

(этилового) спирта и получения метиловых эфиров. Основная технология получения метиловых эфиров основана на этерификации триглициридов масла метанолом с использованием основных или кислотных катализаторов [3].

Одним из способов получения липидов, как сырья для получения биодизеля, является микробиологическое производство. В перспективе липиды, полученные с помощью микроорганизмов, смогут заменить жиры и масла растительного и животного происхождения, используемые для технических целей. Для получения липидов дрожжевого происхождения возможно использование дешевого сырья. Таким дешевым исходным сырьем является торф [4].

Целью работы было исследование процессов накопления микробных липидов с использованием торфа как ростового субстрата.

Материалы и методы. Объектом исследований были дрожжи *Pichia anomala* IMB Y-5067 из «Коллекции штаммов микроорганизмов и линий растений для пищевой и сельскохозяйственной биотехнологии» ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины». Посевной материал получали на солодовом сусле с содержанием сухих веществ 8,0 %. Для получения посевного материала культуру пересевали со скошеного солодового агара, перенося дрожжевые клетки в колбу объемом 0,25 л с 0,05 л стерильной питательной среды и культивировали в шейкере-инкубаторе BIOSAN ES-20 (Латвия) со скоростью перемешивания 240 об/мин и при температуре 31±1 °С в течение 24 ч.

В качестве источника углерода использовали низинный торф в количестве 50,0 г/л, с добавлением питательных и ростовых веществ, согласно вариантам (г/л):

I – KH_2PO_4 – 2,0; $MgSO_4$ – 0,12; $(NH_4)_3PO_4$ – 10,0; дрожжевой экстракт – 2,0.

II – KH_2PO_4 – 3,0; $MgSO_4$ – 0,18; $(NH_4)_3PO_4$ – 15,0; дрожжевой экстракт – 3,0.

III – KH_2PO_4 – 4,0; $MgSO_4$ – 0,24; $(NH_4)_3PO_4$ – 20,0; дрожжевой экстракт – 4,0.

Кислотность среды определяли на pH-метре – pH-150M (Беларусь).

Посевной материал вносили в среду в количестве 10 %. Дрожжи культивировали глубинным периодическим способом на качалках (240 об/мин) при температуре 31±1 °С в течении 72 часов.

Количественный учет липидов проводили согласно [5]. Количество сухой биомассы определяли весовым методом [6].

Все опыты проводились в трех повторностях, статистическую обработку результатов выполняли согласно [7], с помощью программы Microsoft Excel. Разницу между двумя средними величинами считали достоверной при $p<0,05$.

Результаты и обсуждения. Торф – сложный для потребления микроорганизмами субстрат требующий предварительной подготовки. Одним из распространенных методов подготовки торфа для культивирования является взрывной автогидролиз. Во время проведения взрывного автогидролиза пульпу (смесь торфа с водой) сначала нагревают под давлением до 0,6 МПа, а потом резко сбрасывают давление, в результате чего происходит взрыв, что приводит к разрушению структуры торфа, раскладывая его на смесь различных сложных полисахаридов. Взрывной автогидролиз является экологически безопасным методом, поскольку не требует применения химических веществ [8].

Для изучения повышения биодоступности дли микроорганизмов компонентов торфа было проведено культивирование *P. anomala* IMB Y-5067 на питательной среде с торфом без обработки и после проведения его взрывного автогидролиза. Результаты эксперимента представлены на рис. 1.

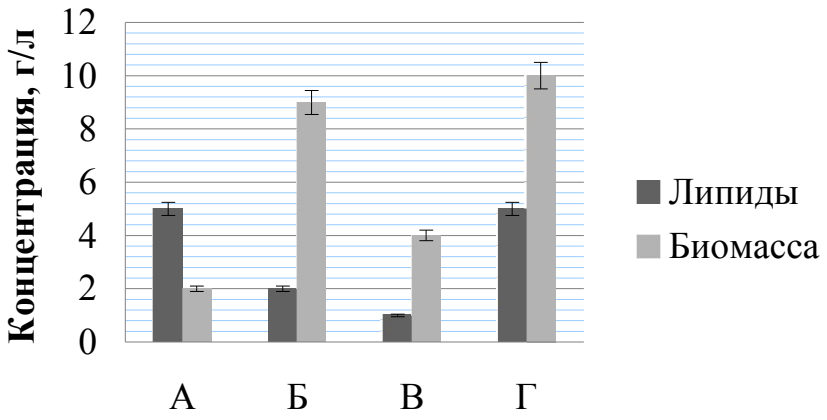


Рис. 1 Влияние метода обработки пульпы торфа на синтез биомассы и липидов *P. anomala* IMB Y-5067:

А - пульпа торфа без обработки; Б - пульпа торфа после взрывного автогидролиза; В - пульпа после взрывного автогидролиза, разведение 1:4; Г - пульпа после взрывного автогидролиза и последующей фильтрации.

Здесь и далее: * – $p < 0,05$.

Разведение пульпы после взрывного автогидролиза в 4 раза привело к тому, что количество питательных веществ в среде стало явно недостаточным. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования фильтрата пульпы торфа в качестве углеводного компонента среды после взрыва для получения биомассы *P. anomala* IMB Y-5067. Количество синтезированных липидов с использованием пульпы до и после взрывного автогидролиза и фильтрации была одинаковой (5,0 г/л). В то же время концентрация биомассы *P. anomala* IMB Y-5067 при выращивании на среде с пульпой торфа после взрывного автогидролиза и фильтрации была в 4,5–5 раза выше, чем на среде с пульпой торфа, не прошедшей обработку. Это может свидетельствовать о большей биодоступности компонентов торфа, но неоптимальным для синтеза липидов соотношением *C/N*. Для точного (без влияния осадка) определения количества липидов и биомассы в дальнейших опытах использовали фильтраты пульпы.

Для оптимизации состава питательной среды было проведено культивирование *P. anomala* IMB Y-5067 на низинном торфе после взрывного автогидролиза с добавлением питательных и ростовых веществ (рис. 2).

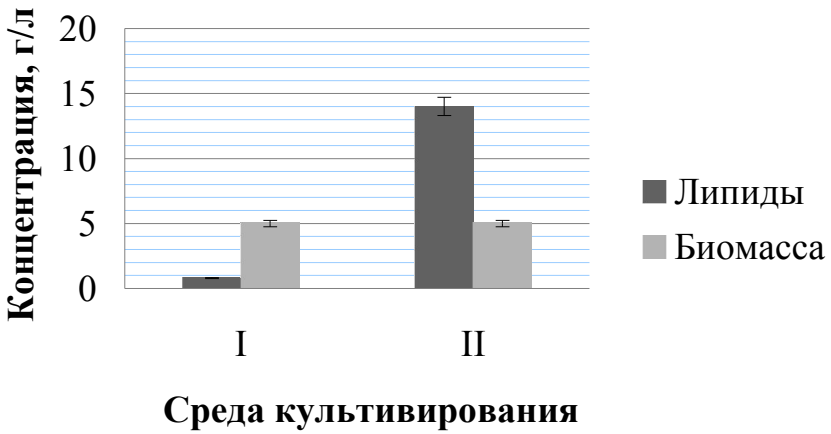


Рис. 2. Синтез биомассы и липидов дрожжами *P. anomala* IMB Y-5067 на средах различного состава

Наибольшее количество липидов (14,0 г/л), получено при культивировании *P. anomala* IMB Y-5067 на среде II, что может свидетельствовать об оптимальном соотношении *C:N* в среде именно этого состава.

Другим эффективным эффектов, возникающих при схлопывании кавитационных пузырьков вблизи обтекаемых кавитационным потоком частиц. При этом основными процессами являются механическое измельчение частиц, возбуждение молекул, ионизация, окисление, разрыв химических связей, а также, образование ассоциатов и твердых частиц. При кавитационной обработке различных материалов образуются радикалы, ионы, возникают ион-радикальные образования [9, 10].

Для изучения влияния кавитацинной обработки пульпы торфа на синтез липидов было проведено культивирование *P. anomala* IMB Y-5067 на питательных средах с различным содержанием солей, ростовых факторов и торфяной пульпой, прошедшей кавитационную обработку (рис. 3).

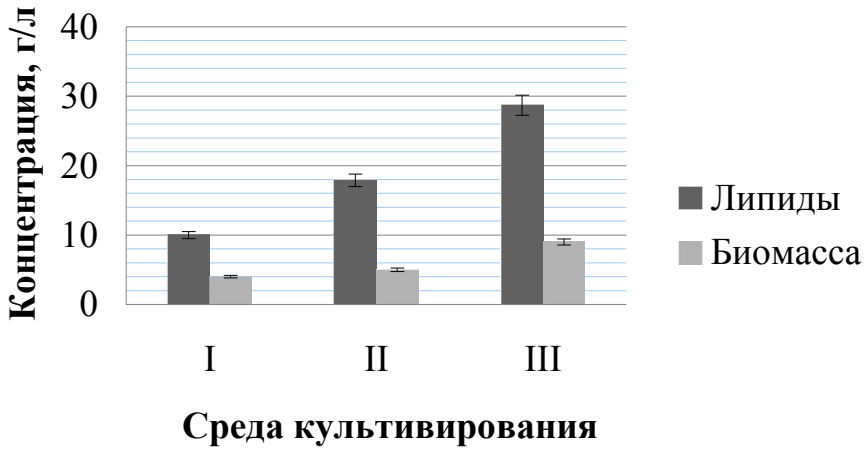


Рис. 3. Синтез биомассы и липидов дрожжами *P. anomala* IMB Y-5067 на среде после кавитации водно-торфяной смеси

Таким образом, после осуществления кавитационной обработки торфа происходит интенсификация процесса биосинтеза липидов с 10,0 г/л до 28,7 г/л и биомассы с 4,0 г/л до 9,0 г/л. В то же время, при культивировании дрожжей *P. anomala* IMB Y-5067 на среде аналогичного состава с сахарозой, как основным источником углеводов, максимальное накопление липидов составило 14,0 г/л. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о возможности использования низового торфа как единственного источника углерода для получения микробных липидов и перспективности использования кавитации для обработки водно-торфяной смеси.

способом подготовки торфа к дальнейшей переработке является осуществление кавитации. Гидродинамическая кавитационная обработка служит эффективным средством изменения структуры торфа за счет сил гидравлического удара и физико-химических

Выводы. В проведенной работе было показано перспективность получения липидов при культивировании *P. anomala* IMB Y-5067 на непищевом субстрате – низовом торфе. Исследовано влияние взрывного автогидролиза пульпы и кавитационной обработки на накопление биомассы и

синтез липидов в *P. anomala* IMB Y-5067. Установлено, что максимальное накопление липидов (28,7 г/л) происходит при кавитационной обработке торфа и внесении питательных и ростовых веществ в среду культивирования.

Список литературы

1. *Гавриленко О.П.* Екогеографія України: навчальний посібник. – К.: Знання, 2008. – 646 с.

2. Проблеми державного регулювання розвитку біодизельного виробництва в Україні [Електронний ресурс] / Малашенко Є.В., Хринюк О.С. – Режим доступу: http://www.essuir.sumdu.edu.ua/bitstream/123456789/12404/1/6.doc.

3. *Чучуй В.П., Уминський С.М., Інютін С.В.* Альтернативні джерела енергії. – Одеса: ТЕС, 2015. – 494 с.

4. *Кухар В.П.* Биоресурсы – потенциальное сырье для промышленного органического синтеза // Катализ и нефтехимия. – 2007. № 15. – С. 1–15.

5. *Baïtmler E.R.* Solvent extraction: kinetic study of major and minor compounds // JAOCS. – 2010. – 87, – P. 1489 – 1495.

6. *Болотов В.В., Свєчнікова О.М., Голік М.Ю.* Аналітична хімія: Якісний та кількісний аналіз. Навчальний конспект лекцій. – Вінниця: Нова Книга, 2011. – 424 с.

7. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 300 с.

8. *Чуприна Л.А.* Переробка органічних відходів: українські технології // Шляхи розвитку української науки. – 2016. – № 1. – С. 115–117.

9. *Саранчук В.І., Ільяшов М.О., Ошовський В.В., Білецький В.С.* Основи хімії і фізики горючих копалин. – Донецьк: Східний видавничий дім, 2008. – 640 с.

10. *Промтов М.А.* Перспективы применения кавитационных технологий для интенсификации химико-технологических процессов // Вестник ТГТУ. – 2008. – 14, № 4. – С. 861–869.

ДО ПИТАНЬ БОРОТЬБИ З КОРЕНЕВОЮ ГУБКОЮ

Валерія Єфремова, Ольга Шаповалова, Оксана Стрілець

Національний фармацевтичний університет, м. Харків,Україна

Валентина Дишко, Іван Усцький

УкрНДІЛГА ім. Г. М. Висоцького, м. Харків, Україна

Abstract. The literature sources analysis regarding pine plantations root rot damage characteristics and disease prevention and biological control measures was carried out. The most promising measures include the resistant to the pathogen *Heterobasidion annosum* conifers species development.

Keywords: root rot, eradication methods, coniferae*, Heterobasidion annosum*

Вступ. Коренева губка - одна з найбільш небезпечних хвороб хвойних порід дерев. Збудник хвороби – фітопатогенний гриб *Heterobasidion annosum.* Він уражує життєво важливі органи рослини – корені**,** внаслідок чого порушуються процеси ґрунтового живлення, і рослина поступово всихає. Уражені дерева легко вивалюються вітром, заселяються стовбуровими шкідниками**.** Насадження поступово приходить до повного розкладання. Гниль із коренів часто переходить в стовбур і уражає найбільш цінну окоренкову частину стовбура. Це спричинює великі втрати ділової деревини, вихід якої знижується на 40 – 50 %. *H. annosum* вражає близько 200 хвойних порід в лісах Європи, Азії, Америки та Австралії.

В Україні коренева губка вражає в основному соснові насадження, створені на староорних землях і похідні ялинники в Карпатському регіоні. Площа уражень складає понад 120 тис. га соснових насаджень і більше 36 тис. га лісів Карпатського регіону. Загибель багатьох мільйонів гектарів лісу і знецінення деревини хвойних завдають великої шкоди лісовому господарству [1, 5].

Метою даної роботи було проведення аналізу даних літератури щодо біологічних особливостей збудника кореневої губки, епідеміології та методів контролю інфекції. Інформаційний пошук проводили у базі даних Medline та науковій електронній бібліотеці eLIBRARY.ru.

Результати і обговорення. *H. annosum* - вид базидіальних грибів родини Bondarzewiaceae. *H. annosum* в стані повного розвитку складається з міцелію або грибниці, і плодового тіла, яке продукує спори. У природних умовах міцелій розвивається в товщі деревини, тому спостерігати його можна тільки всередині субстрату, що є місцем існування гриба**.** Плодове тіло формується на поверхні субстрату (біля основи стовбура або на коренях) [3].

Найбільш часто коренева губка вражає сосну звичайну *Pinus sylvestris.* Сприйнятливими до збудника також є ялина, ялиця, модрина, кедр та ялівець. Важливим чинником у поширенні кореневої губки є повнота насаджень, так як близьке розташування і зіткнення кореневих систем у насадженнях високої повноти створює сприятливі умови для зараження здорових дерев від хворих, які ростуть поруч. Крім того, створенню оптимальних умов для поширення інфекції сприяють недостатній доступ сонячних променів, підвищення вологості ґрунтів і утворення потужного шару підстилки, що не розклалася в насадженнях з високою повнотою.

Для вивчення захворювання, що викликається кореневою губкою, здійснюють фітопатологічні обстеження. Під час цих досліджень хворі дерева у насадженні відрізняють від здорових за характерними ознаками, такими як: 1) зовнішній стан дерева (ажурність крони, вкорочення, пожовтіння і опадання хвої); 2) наявність плодових тіл гриба; 3) стан коренів; 4) утворення гнилі; 5) наявність тріщин і потовщень в комлевої частини стовбура і нахилу дерев.

H. annosum має широкий спектр факторів патогенності, які забезпечують проникнення, виживання та поширення збудника у деревині. Відомо, що гриб секретує багато ферментів (амілазу, каталазу, целюлазу, естеразу, глюкозидазу, геміцелюлазу, пероксидазу, лакказу, пектиназу, фосфатазу, протеазу тощо), роль яких у патогенезі хвороби ретельно вивчається [7]. Крім того, збудник утворює кілька низькомолекулярних токсинів, такі як фоманнотоксин,

ооспонол, ооспоглікол та інші, які провокують системні зміни метаболізму тканин ураженого дерева. В експерименті під дією токсинів спостерігається швидке потемніння коренів проростків сосни, хлороз та прогресуюче побуріння хвої, що підтверджує патогенетичний вплив токсичних вторинних метаболітів *H. annosum.*

В процесі розвитку захворювання різні фізіолого-біохімічні показники дерева зазнають суттєвих змін. Під дією кореневої губки в хвої дерева змінюється pH, різко зменшується вміст хлорофілу і вітаміну С, а вміст смол в лубі збільшується. Під впливом ураження біохімічні зміни відбуваються не тільки в місці проникнення патогену, а й практично у всіх тканинах дерева. При цьому зменшується вміст геміцелюлози, елементів мінерального живлення, нуклеїнових кислот, вуглеводів.

У сосни гриб вражає лише кореневу систему і основу стовбура. Причина строгої локалізації гнилі від кореневої губки пояснюється тим, що в деревині стовбура сосни міститься більше живиці, ніж у коренях. Вважається, що саме підвищений вміст живиці в стовбурі дерева і є бар'єром, який затримує подальше поширення гриба з коренів у стовбур [3].

Пошук надійних засобів боротьби з кореневою губкою є однією з надважливих проблем лісового господарства. На даний момент основними способами формування стійких насаджень є різноманітні лісогосподарські заходи, такі як згрібання підстилки; видалення пнів; формування змішаних насаджень; просочування пнів антисептиками; внесення мінеральних речовин; біологічні методи боротьби тощо. Найбільш поширеним заходом є вибіркові санітарні рубки.

Після рубок догляду часто спостерігається поширення осередків захворювання, що відбувається внаслідок зниження в цей період потенційної стійкості освітлених рубкою дерев. Це пов’язано з перерозподілом притоку первинних метаболітів до точок росту, що призводить до зменшення синтезу речовин (фенолів, продуцентів смолоносної системи), які виконують захисні функції проти патогенів [4].

Як альтернатива традиційним методам контролю за інфекцією, спричиненою *H. annosum,* були запропоновані біологічні методи боротьби з використанням природних конкурентів та антагоністів збудника кореневої губки – грибів *Phlebiopsis gigantea, Bjerkandera adusta, Fomitopsis pinicola, Resinicium bicolor, Hypholoma spp., Trichoderma spp., Scytalidium spp.* Найбільш ефективним з них виявився сапрофітний антагоністичний вид *Phlebiopsis gigantea,* на основі якого були розроблені три препарати – PG Suspension®, PG IBL® та Rotstop®, які рекомендовано для застосування в деяких країнах. Зазначається, що використання цих заходів запобігає поширенню кореневої губки майже у 90 % випадків [6].

Хоча коренева губка діє як дуже жорсткий чинник природного відбору, і у локальних осередках розвитку хвороби спостерігається масове всихання дерев, окремі з них або групи виживають. Дослідження, проведені рядом авторів, свідчать, що виживання дерев в осередках кореневої губки обумовлено їх спадковими властивостями та різним ступенем імунного захисту, механізми якого на сьогоднішній день залишаються недостатньо вивченими [2].

В галузі лісового господарства України проблема підвищення стійкості створюваних лісових насаджень до кореневої губки є дуже актуальною. До шляхів вирішення цієї проблеми можна віднести поглиблене вивчення механізмів, які сприяють формуванню стійкості рослин до дії різних несприятливих факторів та фітопатогенів, а також застосування сортового насінного матеріалу, резистентного до *H. annosum.*

Висновки. На сьогодні на основі аналізу класичної схеми взаємодії між рослиною-господарем і патогеном було запропоновано багато методів контролю за поширенням кореневої губки. Проводиться активний пошук маркерів стійкості рослин та патогенних властивостей збудника із застосуванням генетичних методів з метою пошуку і створення резистентних і толерантних порід. В ряді країн успішно діють програми розведення стійкого до кореневої губки садивного матеріалу.

В Україні такі роботи активно проводяться в УкрНДІ лісового господарства і агролісомеліорації ім. Г.М. Висоцького.

На кафедрі біотехнології НФаУ сумісно з фахівцями УкрНДІЛГА виконується пошукова робота з отримання ізолятів *H. annosum*, актуальних для лісових насаджень Харківської області, та вирощування саджанців сосни звичайної, стійких до збудника кореневої губки.

Список літератури

1. Білоус М.М. Еколого-лісівничі особливості відтворення лісових насаджень на староорних землях Чернігівського Полісся: автореф. дис. ... канд. с.–г. наук: 06.03.01 / НУБіП України. – К., 2009. – 19 с.

2. Дишко В.А. Особливості біохімічних процесів насадження сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) ураженого кореневою губкою / В.А. Дишко, І.М.Усцкий // Биоразнообразие и устойчивое развитие: Материалы докладов III Междунар. конф. (Симферополь, 15–19 сентября 2014 г.). – С. 118–119

3. Негруцкий С. Ф. Корневая губка / С. Ф. Негруцкий. – М.: "Лесная промышленность", 1973. – 200 с.

4. Усцкий И. М. Особенности формирования очагов корневой губки и влияние лесохозяйственных мероприятий на устойчивость насаждений сосны: дис. ... канд. с.-х. наук : 06.03.03/ Укр. НИИ лесн. хоз-ва и агролесомелиорации им. Г. Н. Высоцкого. – Харьков, 1988. – 348 с.

5. Biology, epidemiology, and control of Heterobasidion species worldwide / Garbelotto M, Gonthier P.// Annu Rev Phytopathol.. – 2013, №51. – P. 39-59.

6. Conifer root and butt rot caused by Heterobasidion annosum (Fr.) Bref. s.l./ F. O. Asiegbu, A. Adomas, J. Stenlid// Molecular plant pathology. – 2005. - №6 (4). – P. 395–409.

7. Pathogenicity in Heterobasidion annosum s.l./ J. Stenlid [et. al] //Aktuelt fra skogforskningen. – 2006. - № 1/06. – P. 13-15.

ФІТОПАТОГЕННА ЕПІФІТНА МІКРОФЛОРА РОСЛИН

Ярослав Гайдай, Марія Журавльова, Вікторія Красінько

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. the epiphytic microorganisms of houseplant *Senecio cruentus* was explored during the research work. Herewith we detected the phytopathogenic strains of bacteria of *Erwinia* genus. As method of struggling against *Erwinia* we proposed to use the antagonistic relationships of bacteria with micromycetes of *Alternaria* genus.

Keywords: epiphytic microorganisms, *Erwinia carotovora*, phytopathogenic bacteria, antagonism, biocontrol agents.

Вступ. Рослини мають дуже велике значення в житті людини — вони можуть бути використані як їжа, елемент декору, сировина в фармацевтичній та харчовій галузях промисловості та інших сферах людської діяльності. В умовах постійних змін екологічного стану навколишнього середовища внаслідок людської діяльності (індустріалізації, промислового забруднення та забруднення побутовими відходами), постійного розширення міст і росту кількості населення, існує необхідність як запобігати хворобам рослин, важливих для людини, так і слідкувати за розповсюдженням патогенних мікроорганізмів, які є умовно патогенними для людини.

Відомо близько 200 видів фітопатогенних бактерій. Вони поширюються завдяки повітрю, комахам, воді, ґрунту і тваринам. Більшість бактерій проникають в рослини через механічні ушкодження або природні отвори. Для активної життєдіяльності патогенним бактеріям потрібні достатньо теплі і вологі умови. Вони ростуть між клітинами зараженої рослини та поглинають поживні речовини, що витікають в міжклітинний простір, а також виробляють ферменти, які розкладають клітинні стінки, регулятори росту, які змінюють нормальний ріст рослин [3].

Найбільш поширеними і шкідливими для рослин є бактерії видів *Pseudomonas syringae pathovars*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas oryzae pathovars oryzae*, *Xanthomonas campestris pathovars*, *Xanthomonas axonopodis pathovars*, *Erwinia amylovora*, *Xylella fastidiosa*, *Dickeya dadantii*, *Dickeya solani*, *Pectobacterium carotovorum*, *Candidatus Liberibacter*, *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas savastanoi* [1].

Бактерії роду *Erwinia* мають форму паличок розміром 0,5-3 мкм, поодинокі або з'єднані попарно, рідше мають форму ланцюжка, не утворюють спори. Клітини рухливі, грамнегативні, є єдиними факультативними анаеробами серед фітопатогенних бактерій. Рухаються за допомогою розташованих перитрихіально джгутиків. Оптимальна температура росту — 27-30°С. Колонії мають сірувато-білий колір и випуклу форму.

Представники *Erwinia* є найчастішою причиною епіфітотій — захворювань рослин, що викликаються епіфітними мікроорганізмами. Також цей рід відносять до умовно патогенних для людини та комах бактерій. Більшість видів *Erwinia* не здатні до виживання на ґрунті, проте здатні до довгого зберігання у залишках відмерлих рослин [2,3].

Дослідження найтиповіших рослинних патогенів відкриє шлях до пошуку менш шкідливих як для рослин, так і для людини методів їх знищення.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом досліджень була кімнатна рослина Цинерарія гібридна кривава (*Senecio cruentus*), яка мала явні зовнішні ознаки фітопатогенного ураження.

Під час проведення науково-дослідної роботи було зроблено посів-відбиток досліджуваної кімнатної рослини на поживному середовищі – м'ясо-пептонному агарі. Посів було інкубовано за 30°С упродовж 24 год.

Дослідження морфолого-культуральних ознак мікроорганізмів проводили методом оптичної мікроскопії за допомогою препаратів «роздавлена крапля». Аналіз зовнішніх колоній проводили візуально.

Результати і обговорення. На досліджуваній рослині було відмічено наступне: бактеріальний опік або некроз – деякі листки досліджуваної рослини містили на своїх кінчиках залишки відмерлих тканин, що мали буре, місцями чорне забарвлення [4]. За сукупністю ознак зроблено припущення, що дане захворювання викликане бактеріями виду *Erwinia carotovora*, які виділяють незначну кількість газу й містять путресцин – продукт гнильного розпаду білків [2].

Erwinia carotovora є комплексною групою, що складається зі штамів з діапазоном різних фенотипових, біохімічних, генетичних характеристик і певним діапазоном господарів. Цей вид широко поширений в навколишньому середовищі, вважається патогеном з широким діапазоном враження. Проте, за своєю природою, *Erwinia carotovora* пов'язані з конкретними видами рослин, про що свідчить адаптація до конкретних господарів. Генетичних факторів, відповідальних за спеціалізацію на певних рослинах, у *Erwinia carotovora* не виявлено [5].

Erwinia carotovora може увійти в рослину через порізи або через природні отвори на поверхні рослини. В провідних тканинах і міжклітинному просторі кіркових тканин збудник залишається до появи придатних для розвитку хвороби умов навколишнього середовища, в тому числі вільної води, кисню, певної температури. *Erwinia* виробляють екзоферменти, в тому числі пектинази, целюлази і протеази, які руйнують клітинні стінки рослини і вивільняють поживні речовини для росту бактерій. Пектиназа є основним екзоферментом, який бере участь в розвитку хвороби. Ці екзоферменти виводять пектини з рослинної клітини, викликаючи колапс тканини та пошкодження клітин [5,6].

Також було виявлено в’янення – деякі з листків досліджуваної рослини повністю складалися з відмерлих тканин. При збільшенні зображення за допомогою збільшувального скла на листку, узятому в якості зразка, було виявлено потемнілі внутрішні судини [5]. Це захворювання було викликане видом *Erwinia herbicola*, що також відноситься до бактерій, патогенних як для тварин, так і рослин. Зазвичай захворювання починається за інтенсивного

розмноження бактеріальних клітин за високої вологості й у період масового цвітіння чутливих видів рослин [2].

Під час аналізу морфолого-культуральних ознак на м'ясо-пептонному агарі було виявлено невелику колонію темно-сірого кольору, округлої форми з пухнастою поверхнею та декілька дрібних колоній білого кольору, округлої форми з гладкою поверхнею (рис. 1). Під час розгляду їх крізь збільшувальне скло у більшій колонії було виявлено волокнисту структуру, що свідчить про наявність міцелію у товщі агару, структура менших виявилась однорідною, що дозволило припустити, що вони були утворені бактеріальними або дріжджовими клітинами.

Під час мікроскопіювання зразку, узятого з більшої колонії на м'ясо-пептонному агарі, було виявлено мікроміцет, який за сукупністю характерних морфолого-культуральних ознак можна віднести до роду *Alternaria* виду *alternata.* За мікроскопіювання зразків, узятих з менших білих колоній, було виявлено рухливі палички, які згідно літературних даних та результатів наших спостережень, скоріш за все є представниками бактерій роду *Erwinia*.

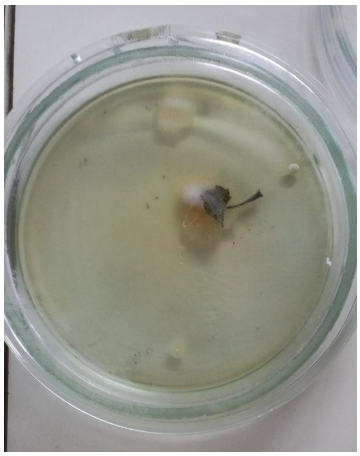


Рис. 1. Колонії фітопатогенних мікроорганізмів, виділені з *Senecio cruentus*

Висновки. В результаті досліджень хворої кімнатної рослини було виявлено, що поверхня її листків – особливо тих, що були піддані в’яненню та

відмерли, – була вкрита колоніями фітопатогенних мікроорганізмів. Аналіз росту бактеріальних і мікроміцетних колоній показав, що між ними виникають певні зони затримки росту. Це дає змогу припустити, що розвиток мікроміцетів *Alternaria* пригнічує розвиток клітин *Erwinia*, тобто, між двома біологічними видами має місце антагонізм. Виходячи з цього, можна використовувати взаємовідносини мікроміцетів й бактерій як способу боротьби з фітопатогенними бактеріями.

Робота була виконана учасниками студентського наукового гуртка «Cella mirabilis».

Список літератури

1. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology /John Mansfield, Stephane Genin, Shimpei Magori et al. // Molecular Plant Pathology. — BSPP And Blackwell Publishing Ltd, 2012. — p. 614 - 629.

2. Микроорганизмы — возбудители болезней растений / Билай В. И., Гвоздяк Р. И., Скрипаль И. Р. и др.; Под ред. Билай В. И. — К.: Наук. думка, 1988.— 289 - 300 с.

3. Plant pathology. 5th ed. / George N. Agrios. — USA.: Elsevier Academic Press, 2005. — p. 621.

4. Лесная фитопатология: Учебник. / Под ред. проф. Б. П. Чуракова. 2-е изд., испр. и доп. — СПб.: Издательство «Лань», 2012. — 125 – 126 с.: ил.

5. Genomic Diversity of *Erwinia carotovora* subsp.*carotovora* and Its Correlation with Virulence / Mee-Ngan Yap, Jeri D. Barak, Amy O. Charkowski // Applied and Environmental Microbiology. — 2004. — Vol. 70 (№ 5). — p. 3013.

6. Biological Control of Erwinia carotovora ssp. carotovora by Streptomyces Species / Tinatin Doolotkeldieva, Saykal Bobusheva, Ayzat Suleymankisi // Advances in Microbiology. — 2016. — № 6. — p. 105.

ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ДЕЯКИХ ЦІННИХ ЛІКАРСЬКИХ І СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ РОСЛИН

Ісакова Лада

Київський палац дітей та юнацтва, м. Київ, Україна

Анотація. Представники видів *Stevia rebaudiana Bertoni, Physalis aequata* та *Abelmoschus esculentus (Hibiscus esculentus)* є цінними господарськими та лікарськими рослинам. Дані види рослин було введено в культуру *in vitro.* Найбільш ефективним виявилось пророщення у стерильних умовах *A. esculentus*, найменш - рослин *S. rebaudiana* і *Ph. aequata*.

Ключові слова: культивування in vitro*, Stevia rebaudiana (Bertoni), Physalis pubescens, Physalis aequata, Abelmoschus esculentus (Hibiscus esculentus).*

Вступ. Останнім часом, значного розповсюдження набув метод культивування рослин *in vitro* та мікроклонального розмноження зокрема. Перевагою цього методу є можливість проведення досліджень із отриманням більш точних результатів незалежно від сезону. Культури тканин таких рослин мають ряд унікальних особливостей. По-перше, їх можна використовувати у вигляді культури недиференційованих клітин (каллус), яка зберігає здатність синтезувати специфічні сполуки, що властиві рослинам *in vivo* [8]. По-друге, з'являється можливість успішної репродукції видів, природне поновлення яких в природі послаблене або викликає значні труднощі, стає можливим використання мінімальної кількості експлантів для отримання значної кількості рослин без порушення природних популяцій [1]. Також, використання цього методу сприяє скороченню селекційного процесу за рахунок відбору безпосередньо в культурі *in vitro* [2].

На даний момент у культуру *in vitro* введено значну кількість видів рослин – представників різних родин. Таким чином було відкрито різноманітні

властивості деяких таксонів, дослідження яких було проблематичним при роботі із рослинами *in vivo*.

Представники родів *Stevia, Physalis, Abelmoschus (Hibiscus)* є цінними господарськими та лікарськими рослинами, що мають значний потенціал та можуть були використані у різних галузях. На даний момент, ці рослини використовуються як у харчовій, так і у фармацевтичній промисловості. Проте, у більшості випадків деякі особливості цих видів (здатність до синтезу специфічних речовин, різного роду лікарські активності – антибактеріальна, антиоксидантна, протипухлинна тощо) не є розкритими і вживаними у повній мірі. Проблему становить складність розмноження даних видів. Так, *S. rebaudiana* - лікарська рослина, що містить велику кількість глікозидів і може слугувати природним замінником цукру [12], а також проявляє як антибактеріальну, так і протипухлинну й протигрибкову активності [11], є досить вибагливою культурою. Рослини *S. rebaudiana* у нашому кліматі (у відкритому грунті) навесні не завжди здатні продовжувати ріст і давати нові пагони після перенесення низьких зимових температур, тому культивування *in vitro* є важливим етапом в інтродукції цього виду [13, 14].

Ще однією цінною культурою є бамія (*A. esculentus*), яка містить досить багато різних білків, вуглеводів і вітамінів (особливо вітаміну С), завдяки чому відіграє важливу роль в харчуванні людини. Окрім цього, рослини проявляють високу антиоксидативну (завдяки великій кількості фенолів) [15] і антиадгезивну властивості [16, 17]. Так, знайдені у рослинах бамії полісахариди і глікопротеїни інгібують адгезію таких бактерій, як *Campylobacter jejuni* [16] і *Helicobacter pylori* [17].

Основною особливістю видів, що належать до роду *Physalis* є синтез, так званих, фізалінів (поліоксистероїдів) [3]. Завдяки цьому ці рослини проявляють цілий ряд різного роду активностей, які на даний момент досліджені лише у представників деяких видів. Такі види як *Ph. pubescens, Ph. aequata* використовуються у харчовій промисловості. Введення у культуру цих видів рослин дає можливість перевірити їх на наявність корисних властивостій, а за

умови позитивного результату з'являється можливість використання більшого різноманіття рослин у лікарських цілях.

Отже, метою даної роботи є введення в культуру *in vitro* названих рослин, визначення ефективності проростання представників даних видів у стерильних умовах.

Матеріали і методи дослідження. Рослини Стевії, Фізалісу і Бамії вводили в культуру *in vitro* методом поверхневої стерилізації насіння. Для цього насіння витримували у розчині 70% етанолу протягом 30 секунд, 10 хвилин у 25% розчині комерційного препарату «Білизна» (розчин гіпохлориту натрія). Потім промивали у стерильній дистильованій воді (тричі по 10 хвилин). Отримане насіння пророщували на безгормональному поживному середовищі Мурасіге і Скуга (МС) [10] у чашках Петрі за температури 26°С. Підраховували ефективність проростання насіння, визначаючи відношення кількості насінин, що проросли, до кількості всіх простерилізованих насінин у відсотках.

Результати і обговорення. Було введено у культуру *in vitro* рослини *Abelmoschus esculentus* (*Hibiscus esculentus*), Стевії (*Stevia rebaudiana (Bertoni)*), та один із видів Фізалісу - *Physalis aequata*.

Була здійснена спроба введення в культуру фізалісу 2 видів – *Ph. pubescens, Ph. aequata.* Проте у стерильних умовах вдалось культивувати лише один із них – вид Фізаліс Овочевий (*Ph. aequata)* сорту Кондитер. Оскільки умови стерилізації були однаковими, то це можна пов'язати із відмінностями між видами, або ж із загалом низьким рівнем проростання рослин даного роду. Також, такий результат можливий через неякісне насіння, хоча насіння обох видів купували однієї торгової марки. Як було зазначено, ефективність проростання є достатньо невеликою - 14 % від усіх простерилізованих насінин *Ph. aequata*. Вегетаційний період цього виду достатньо довгий – місяць до проростання рослини, швидкість і активність росту – невисока. В наших дослідженнях довжина рослин через 16 діб культивування становила до 4 см. У літературі зазначають, що отримувати

рослини роду *Physalis* в культурі *in vitro* доцільніше не з насіння, а із нодальних експлантів (частини рослин із клітинами що активно діляться – меристематичні ділянки рослини), а також культивувати на середовищах із вмістом регуляторів росту [4]. Однак, хоча введення рослин в культуру таким чином є більш ефективнимм, але й такий спосіб одночасно дуже ресурсозатратним і високовартісним.

В наших дослідженнях також виявили низьку ефективність введення в культуру рослин *S. rebaudiana*. Проростання насінин відбулось через 4 тижні після стерилізації. Так, період схожості насіння є достатньо довгим, проте, як можна бачити з літератури, є нормальним для даного виду [5]. При цьому ефективність проростання складало 16 %. Малий відсоток пророщених рослин можна пов'язати із наявністю безплідних насінин [7]. У більшості літературних джерел, аналогічно до рослин роду *Physalis,* йде мова про отримання рослин не із насіння, а із нодальних сегментів (дрібні насінини не дуже зручні у стерилізації) [5, 6]. Проте, як бачимо, отримання рослин із насіння також можливе. Перевагою використання саме насінин, а не культури недиференційованих клітин чи фрагментів одного експланту є більше різноманіття властивостей, що можна спостерігати після пророщення, і використовувати потім задля селекції рослин із потрібними характеристиками. З іншого боку, при використанні частин однієї рослини для пророщення *in vitro*, можна бути впевненими у одноманітності всіх експлантів щодо потрібних ознак. Як вирішення проблем поганого проростання таких рослин, як стевія й фізаліс можна також використовувати середовища із різноманітним вмістом регуляторів росту – ауксинів або цитокінінів.

Найвища ефективність проростання і найкоротший період схожості насіння спостерігався у *A. esculentus.* Показано, що 100% насінин даного виду проросло на 7 добу після стерилізації, довжина кореня рослини складала до 3 см. На одинадцятий день довжина пагону була близько 12 см. Надалі спостерігали активний ріст пагонів та коренів. Повноцінну, сформовану рослину отримали за 2 тижні. Згідно даних літератури та наших досліджень

рослини *A. esculentus* можна вводити в культуру *in vitro* як за допомогою стерилізації насіння, так і використовуючи нодальні сегменти рослин [9]. Але введення в культуру *in vitro* методом поверхневої стерилізації насіння є більш простим та менш коштовним.

Отримані результати надалі можна використовувати як для покращення методик введення даних рослин в культуру, так і для різного роду фундаментальних і прикладних досліджень властивостей цих рослин із можливим подальшим використанням їх у медицині чи в промисловості.

Висновки. Було введено в культуру *in vitro* рослини видів *Stevia rebaudiana Bertoni, Physalis aequata, Abelmoschus esculentus (Hibiscus esculentus)* та визначена ефективність їх проростання. Найвищі показники як періоду схожості насіння, так і ефективністю проростання, спостерігали у *A. esculentus.* Введення в культуру даного виду можна проводити за стандартною методикою, вирощуючи на безгормональному середовищі МС. Показники при введенні в культуру рослин *S. rebaudiana, Ph. aequata* є приблизно однаковими – до місяцю від стерилізації до проростання і до 16% ефективності. Низька ефективність може бути пов'язана із особливостями рослин цих видів. Рослини фізалісу іншого виду *Ph. pubescens* в культуру *in vitro* ввести не вдалося. Показано, що вирощування у стерильних умовах названих видів рослин із насіння можливе і є у більшій чи меншій мірі ефективним. Задля підвищення показників можна використовувати поживні середовища із гормонами.

Список літератури

1. Ветчинкіна К.М. Биологические особенности культивирования *in vitro* семян и зародышей редких видов растений - дисс. на соискание уч. степени кандидата биол. наук, на правах рукописи, - Москва, 2010. - 170с.

2. Ромаданова Н.В., Мишустина С.А., Матакова Г.Н., Рахімбаєв І.Р., Кушнаренко С.В. Введение в культуру *in vitro* и микроклональное размножение перспективных сортов, клоновых подвоев и дикорастущих форм яблони // Казахский национальный аграрный университет (исследования, результаты), - Алмати, 2013.

3. R. Pierro, S. Kashima, D. N. Sato, A. H. januario and S. C. Franca. *In vitro* antimycobacterial activities of *Physalis angulata L.* // Phytomedicine. - Vol. 7, № 4, 2000. - P. 335-338.

4. Intzaar, S., M. Akram and H. Afrasiab. High frequency multiple shoot formation of pygmy groundcherry (*Physalis minima*): An endangered medicinal plant // Int. J. Agric. Biol., Vol. 15, № 4, 2013. - P. 755□760

5. Ummi Nur Ain Abdul Razak, Chong Boon Ong, Tiew Sing Yu and Li Kiaw Lau. *In vitro* Micropropagation of *Stevia rebaudiana Bertoni* in Malaysia // Braz. Arch. Biol. Technol. Vol. 57, № 1, 2014.- P. 23-28.

6. L. Sivaram, U. Mukundan. In vitro culture studies on *stevia rebaudiana* // In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant Vol. 39, 2003. - P.520–523.

7. A. Peixe, J. Calado and R. Carlos. A One-Step Procedure for In Vitro Micropropagation of Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) // Acta Hort. Vol. 1083. №37, 2015. - P.295-301.

8. Авксентьева О. А., Петренко В. А. Биотехнология высших растений: культура *in vitro* – учебно-методическое пособие. – Х. : ХНУ им. В. Н. Каразина, 2011. – 60 с.

9. Mohammad Anisuzzaman, Ahmad H. Kabir, Kanak K. Sarker, Shamima Jarin and Mohammad F. Alam. Micropropagation of *Abelmoschus esculentus L*. (Moench.) for disease free plantlets through meristem culture // Archives of Phytopathology and Plant Protection Vol. 43, №. 5, 2010. - P.460-466.

10. T. Murashige and F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. Vol.15, №3, 1962. - P.473–497.

11. Sathishkumar Jayaraman, Muthu Saravanan Manoharan, Seethalakshmi Illanchezian. *In vitro* Antimicrobial and Antitumor Activities of *Stevia Rebaudiana* (Asteraceae) Leaf Extracts // Tropical Journal of Pharmaceutical Research, Vol.7, № 4, 2008. - P. 1143-1149.

12. S. K. Goyal, Samsher, R. K. Goyal. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review // Intern. Journal of Food Sciences and Nutrition. Vol.61, № 1, 2010. - P.1–10.

13. Дзюба О.О. Стевия - *Stevia rebaudiana (Bertoni)* Hemsley, интродукция, морфология, биология, возделывание // дисс. на соискание уч. степени кандидата биол. наук, на правах рукописи, - Санкт-Петербург,1999.- 131с.

14. Верзилина Н. Д. Стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*) в Центральном Черноземье // дисс. на соискание уч. степени доктора сельскохоз. наук, на правах рукописи, - Воронеж, 2005. – 310с.

15. Panadda Khomsug, Walaiporn Thongjaroenbuangam, Noppakun Pakdeenarong, Maitree Suttajit, Piyanete Chantiratikul. Antioxidative Activities and Phenolic Content of Extracts from Okra (*Abelmoschus esculentus L.*) // Research Journal of Biological Sciences Vol.5, № 4, 2010. - P. 310-313.

16. Christian Lengsfeld, Gerhard Faller, Andreas Hensel. Okra polysaccharides inhibit adhesion of *Campylobacter jejuni* to mucosa isolated from poultry in vitro but not in vivo // Animal Feed Science and Technology Vol. 135, 2007. – P. 113–125.

17. Christian Lengsfeld, Fritz Titgemeyer, Gerhard Faller, Andreas Hensel. Glycosylated Compounds from Okra Inhibit Adhesion of *Helicobacter pylori* to Human Gastric Mucosa // J. Agric. Food Chem. Vol. 52, № 6, 2004. -P.1495-1503.

БІОТЕХНОЛОГІЯ КУЛЬТИВУВАННЯ КОРМОВИХ ОРГАНІЗМІВ У СИСТЕМІ ВІДНОВЛЕННЯ ЯКОСТІ ВОДИ РИБНИЦЬКИХ ГОСПОДАРСТВ ІНДУСТРІАЛЬНОГО ТИПУ

Сергій Кононцев, Лариса Саблій

Національний технічний університетУкраїни «Київський політехнічний інститут ім. І. Сікорського», м. Київ, Україна

Юлія Гроховська

Національний університет водного господарства та природокористування, м. Рівне, Україна

Abstract. The article substantiates expediency of including aquatic vascular plants, oligochaetes and mollusks into processes of improvement of water quality that was contaminated in the RAS. The roles of some water organisms in water treatment from main pollution substances as well as their rates of growth in conditions of the special constructed bioreactors were investigated.

Keywords: cultivation of feed organisms, water treatment, biotechnology

Вступ. Рибницькі установки із замкнутим водозабезпеченням (УЗВ) набувають в Україні все більшого поширення, що стимулюється рядом економічних та екологічних факторів. Оскільки у таких комплексах вирощують промислово цінні види риб, актуальним є також забезпечення їх молоді якісними кормами. Для вітчизняних рибницьких господарств, що працюють як УЗВ, доцільність вирощування живих кормів обґрунтовується також достатньо високою ціною імпортних комбікормів, яка суттєво відображається у собівартості вирощеної продукції.

Також важливою запорукою успішного вирощування риб в УЗВ є підтримання фізико-хімічних параметрів води в заданому діапазоні, близькому до оптимального. У даному аспекті головною задачею є вилучення продуктів метаболізму риб, неперетравлених залишків кормів та їх пилоподібних часток,

якими забруднюється вода у басейнах [1,2]. Забруднення, що надходять у воду в процесі вирощування риб, в основній масі являють собою частково трансформовані складові комбікормів – органічні сполуки нітрогену та фосфору. Оскільки риби не в змозі повністю засвоїти спожитий корм, частина його потрапляє у воду. Для риб вона є недоступною, адже переважно це неперетравлені рештки, продукти власного метаболізму та пилоподібні частки корму, які потрапили у воду в процесі годівлі. Саме продукти метаболізму, розчинені у воді, є лімітуючим чинником для риб, перевищення допустимих концентрацій яких призводить до суттєвого уповільнення росту і навіть загибелі. Характеристики забруднень циркуляційної води УЗВ дозволяють розглядати їх як певний енергетичний і матеріальний потенціал, що може бути перетворений у біомасу організмів різних трофічних рівнів, які є кормом для риб. Таким чином, виявляється актуальним пошук гідробіонтів, які одночасно можуть виступити як очисними агентами, так і кормовими організмами. Даний підхід дозволить не тільки ефективно відновити якість забрудненої води, а й трансформувати неперетравлені залишки кормів та рідкі продукти метаболізму риб у поживну для них біомасу, завдяки чому кількість твердих відходів знизиться у декілька разів, дотягнеться економія на комбікормах.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводились на базі рибницького господарства, що займається розведенням та вирощуванням тиляпій, і працює за принципом УЗВ. Тиляпії (*Oreochromis niloticus* L., *O. mossambicus* Peters, *O. aureus* Stein.) є одними з найпоширеніших об'єктів УЗВ як в усьому світі, так і в Україні. Більшість тиляпій невибагливі до якості кормів, здатні ефективно засвоювати як рослинну, так і тваринну їжу. Завдяки тому, що тиляпії можуть споживати широкий спектр організмів рослинного та тваринного світу, технологія отримання живих кормів у процесі відновлення якості забрудненої води для господарств такого профілю є особливо привабливою.

Найперспективнішими очисними агентами за розчиненими сполуками нітрогену ту фосфору в УЗВ виявились вільноплаваючі водні рослини, - їх швидкості асиміляції амоній-йону, нітритів та нітратів значно перевищують швидкості протікання процесів нітрифікації та денітрифікації [3]. Оскільки результати окремих наукових досліджень вказують на позитивний вплив додавання у раціон тиляпій біомаси ряскових, саме вони стали об'єктами досліджень щодо можливості культивування у забрудненій воді УЗВ.

Іншою складовою, що може стати потенційним субстратом для культивування кормових організмів, є нерозчинені домішки. Природа твердих забруднень води УЗВ та їх розміри роблять такі компоненти доступними для багатьох груп гідробіонтів, що можуть включатись у процеси трансформації органічної речовини та перетворювати її у власну біомасу. З огляду на кормове значення окремих видів та зручність їх культивування у проточних біореакторах, що являють собою очисні споруди, було визначено найбільш перспективні групи: молюски, вищі ракоподібні та черви. Для трансформації нерозчинених забруднень у біомасу кормових організмів необхідно розробити конструкції проточних біореакторів, пристосованих для культивування визначених видів гідробіонтів.

З метою дослідження ефективності включення молюсків у процеси відновлення якості циркуляційної води УЗВ було проведено аналіз особливостей метаболізму різних груп прісноводних молюсків, їх морфології та природних екологічних ніш. Серед перспективних до культивування в очисних спорудах видів, які можна використати як кормові організми, увагу було приділено фізі пухирчастій (*Physa fontinalis* L.).

Експериментальні біореактори були інтегровані у частину комплексу рибницьких басейнів, - ємностей для підрощення малька з 10 г до 40-50 г. В цілому, дана система працювала як відокремлена УЗВ, - щільність посадки риб складала 20 кг/м^3 на початку технологічного етапу та близько 100 кг/м^3 наприкінці даного етапу. Оскільки риби отримували комбікорм згідно

встановленої для даної розмірно-вагової групи норми, навантаження на блок відновлення якості води було в межах середньостатистичного для господарств даного профілю. У фітореакторі для вилучення із води розчинених сполук нітрогену та фосфору культивувалась ряска мала (*Lemna minor* L.), у біореакторі зі волокнистим носієм – фіза пухирчаста (*Physa fontinalis* L.).

Динаміку приросту біомаси фіз визначали шляхом зважування молюсків на лабораторній вазі через визначені проміжки часу. Приріст чисельності контролювався шляхом підрахунку молодих особин молюсків у віці 2 тижнів - 1 місяця. Приріст ряски у фітореакторі контролювався через кожні три доби шляхом зважування сирої фітомаси на лабораторній вазі.

Результати і обговорення. Протягом періоду проведення експерименту у виробничих умовах дослідна система, що поєднувала у собі функції блоку споруд біологічного очищення та культиваторів для кормових організмів, функціонувала у стабільному режимі. Приріст біомаси очисних організмів вилучався із культиваторів та згодовувався рибам. Оскільки першочерговою задачею такого комплексу має бути очищення води до допустимих показників, гідравлічний режим споруд та навантаження за певним видом забруднень визначалось виходячи з забезпечення необхідного ефекту очищення.

У фітореакторі з рясковими досягається вилучення 84-90% розчинених сполук нітрогену (переважно - амоній) при тривалості контакту з рослинами в межах 30 хв. Ряскові добре зростали у забрудненій воді, причому вміст дрібнодисперсної завісі не мав негативного впливу на їх розмноження. Щільність посадки рослин у фітореакторі коливалась в межах 4-8 кг/м^2. Приріст ряски малої відповідав наближеним до максимально можливих темпів росту, – час подвоєння власної біомаси становив 24-36 годин. Це дозволяє за добу отримувати в середньому 5-6 кг сирої ваги рослинного корму з одного квадратного метра фітореактора.

Доцільність включення молюсків у процеси відновлення якості води пояснюється двома важливими аспектами: у природному раціоні більшості

тиляпій це поживний кормовий організм; у процесах самоочищення водойм молюски залежно від їх морфології відіграють достатньо важливу роль. Серед молюсків у якості досліджуваного об'єкту було обрано фізу пухирчасту тому що цей вид є достатньо стійким до забруднення води та володіє високими темпами росту. Темпи росту фізи суттєво залежать від наявного корму та температури води. При 18 °С, характерній температурі води, що надходить із басейнів УЗВ з вирощування осетрових, термін подвоєння сумарної біомаси становив близько двох тижнів. У воді із більш високими температурними показниками (в межах 24-27 °С), характерними для господарств з вирощування кларієвого сома (*Clarias gariepinus,* Burchell 1820) та тиляпій, цей період становив 6-10 днів. Враховуючи, що молюски у біореакторі не отримували додаткових кормів, а харчувались лише сорбованими на інертному носію забрудненнями та водоростями, які розвивались у реакторі, можна впевнено стверджувати про ефективну трансформацію таких забруднень у біомасу молюсків.

Утворені у біореакторах тверді відходи також являють собою частково мінералізовану органічну речовину, їх у вигляді мулової суміші доцільно виводити за межі циркуляційного контуру. Найкраще пристосовуються до умов концентрованої мулової суміші представники водних олігохет, які є цінними кормовими організмами для більшості видів риб, особливо на ранніх стадіях розвитку. Попередні дослідження, проведені нами у рибницькому господарстві, підтвердили можливість культивувати в умовах затопленого біофільтра аулофорусів (*Aulophorus furcatus* Müller, 1773) [4]. Необхідно зазначити, що черви здатні ефективно споживати як залишки кормів та їх неперетравлені рештки, так і детрит, що надходить з культиваторів для молюсків чи ракоподібних.

Схема комплексного відновлення якості води у біореакторах має будуватись за принципом біоконвеєра, який дозволяє надати очищеній воді найвищих кондицій якості та мінімізувати кількість утворених відходів. Аналіз

процесів самоочищення природних водойм підтверджує доцільність залучення до очищення забрудненої у рибницьких басейнах води гідробіонтів різних трофічних рівнів, що здатні активно включатись у процеси трансформації розчинених та нерозчинених забруднень, та одночасно виступати потенційними кормовими організмами для риб. В практиці індустріального рибництва така трофічна система не тільки мінімізує кількість утворених осадів, а й дасть можливість отримувати додаткові цінні кормові ресурси (більшості риб можна згодувати навіть без попередньої обробки усі вище перераховані групи гідробіонтів). В цілому концептуальна схема культивування кормових організмів, інтегрована у блок відновлення якості циркуляційної води УЗВ, може виглядати як послідовно з'єднані споруди біологічного очищення, конструктивно пристосовані для культивування певних видів кормових організмів. Їх роль у процесах відновлення якості води вказана на рис. 1.

Рис. 1. Концептуальна схема культивування кормових організмів у процесі відновлення якості циркуляційної води УЗВ.

Таким чином, очищення води з використанням методу біоконвеєра дозволить не тільки вирощувати корми для забезпечення власних потреб у процесі відновлення якості води, а й зробить його максимально дешевим, що у свою чергу позитивно відобразиться на економічних показниках господарства.

Висновки. Основною ідеєю розробленої біотехнології відновлення якості забрудненої циркуляційної води була трансформація розчинених та твердих забруднень у біомасу кормових організмів. Результати проведених експериментальних досліджень підтвердили доцільність включення у процеси біологічного очищення циркуляційної води УЗВ вищих водних рослин, олігохет та молюсків, приріст біомаси яких може бути утилізований як поживний корм для риб. Культивування кормових організмів в умовах очисних установок дозволяє ефективно вилучати основні забруднення циркуляційної води рибницьких господарств та отримувати якісний живий корм із мінімальними витратами. Отримані результати дозволяють розраховувати споруди для біологічного очищення води УЗВ та прогнозувати приріст біомаси досліджуваних гідробіонтів у культиваторах.

Список літератури

1. Schneider O, Sereti V, Eding EH, Verreth JAJ. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems // Aquacultural Engineering. – 2005. – 32. – p. 379-401.

2. C.I.M. Martins, E.H. Eding et al. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability // Aquacultural Engineering. – 2010. – Volume 43. – Issue 3. – p. 83-93.

3. *Кононцев С. В., Саблий Л.А., Гроховская Ю.Р.* Использование макрофитов для очистки воды УЗВ от соединений азота // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: сб. науч. тр. под общ.ред. В.Ю.Агейца. – Минск. – 2015. – Вып. 31. – С. 85-90.

4. *Кононцев С.В., Саблій Л.А.* Біологічна технологія мінералізації осадів рибницьких господарств індустріального типу // Матеріали XIX Міжнародної науково-практичної конференції «Екологія. Людина. Суспільство» (12-13 травня 2016 р., м. Київ) К.: НТУУ «КПІ». - 2016. - С. 97-98.

ВПЛИВ КОМБІНАЦІЙ ДОВЖИН ХВИЛІ СВІТЛОВОЇ ЕНЕРГІЇ НА КУЛЬТИВУВАННЯ *CHLORELLA VULGARIS*

Ігор Левтун, Наталія Голуб, Ірина Науменко

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут», м. Київ, Україна

Анотація. Досліджено вплив комбінацій світлодіодів та інтенсивності освітлення на процес культивування мікроводоростей *Chlorella vulgaris*. Показано, що використання світлодіодів в комбінації різних довжин хвиль впливає як на приріст біомаси мікроводоростей, так і на зміну їх метаболізму в бік синтезу певних речовин. Показано, що комбінація світло діодів червоного, зеленого та синього кольорів у співвідношенні 1:1:1 призводить до підвищення приросту біомаси на 60 % порівняно з природним світлом. Освітлення комбінаціями світлодіодів впливає на біосинтез хлорофілів *а* та *в,* та призводить до збільшення розміру клітин в процесі культивування по відношенню природного освітлення.

Ключові слова: мікроводорості, культивування, хлорофіл, комбінація світлодіодів, освітлення.

Вступ. Приріст біомаси мікроводоростей залежить від надходження світлової енергії до клітини, оскільки режими подачі якої, довжина хвиль спектру поглинання та її інтенсивність впливає не тільки на приріст біомаси, а і на біосинтез певних речовин, таких як триацилгліцероли – сировину для отримання біодизельного палива [1]. Різні види водоростей мають різний набір і співвідношення пігментів у фотосинтетичному апараті (хлоропластах) і, відповідно, переважно поглинають опромінення з різним спектром довжин хвиль [2]. Світлодіоди мають значно вужчий спектр випромінюваних довжин хвиль порівняно з люмінесцентними лампами, які використовують у

стандартних технологіях, що призводить до необхідності пошуку раціональних співвідношень для культивування мікроводоростей.

У роботі [3] встановлено, що опромінення світлодіодами потужністю 1000 Вт протягом 24 годин в діапазоні довжин хвиль від 400 до 640 нм може повністю задовольнити потреби мікроводоростей.

Застосування комбінації світлодіодів може призвести до підвищення біосинтезу ліпідної фракції – сировини для отримання біодизельного палива, що підтверджують дані роботи [4]. Освітлення інтенсивністю 1400 люкс мікроводорості *Scenedesmus sp.* LX1 комбінаціями світлодіодів: білі, червоні, сині, червоні/сині у співвідношенні 3:1 дозволяє отримати вміст ліпідів, відповідно, %: 43,3, 39,5, 36,3 та 30,1, в той час як за природного освітлення вміст ліпідів складав 22,5 %. Приріст біомаси був вищим за використання білих світлодіодів на 18 %, ніж за використанням лише червоних або синіх, а за використанням комбінації червоних і синіх приріст майже не відрізнявся від контрольного досліду з сонячним світлом [4]. Але не має пояснення чому білі світлодіоди призводять до більшого вмісту ліпідів у порівнянні з іншими комбінаціями. Також не зрозуміло чому дія основних спектрів поглинання культури призводить до зниження приросту біомаси та ліпідів по відношенню до освітлення червоним або синім діапазоном хвиль.

Мікроводорості *Chlorella vulgaris* в основному потребують світло у діапазоні синього та червоного спектрів [5]. Тому актуальною проблемою є визначення співвідношення комбінацій довжин хвиль опромінення світлодіодами для підвищення біосинтезу ліпідів без зниження приросту біомаси *Chlorella vulgaris.*

Метою дослідження було визначення необхідного спектру довжин хвиль та їх раціонального співвідношення для інтенсифікації процесу культивування біомаси *Chlorella vulgaris*.

Матеріали та методи. Дослідження проводили за використання мікроводоростей *Chlorella vulgaris* ACKU 531-06 з колекції Національного

Університету ім. Тараса Шевченко. Вирощування мікроводоростей проводилося у фотобіореакторі об'ємом 0,15 дм^3. Як поживне середовище використовувалося середовище Громова №6. Середовище автоклавували протягом 1 години за температури 120 °С та тиску 250 кПа.

Спостереження за розвитком культури здійснювалося за допомогою світлового мікроскопа ТМ XSP-139TP (Ulab, Китай). Для задоволення потреби культури у карбоні раз на добу пропускали 100 см^3 CO_2 з балону. Культивування проводили за температури 18±2 °С.

Визначення хлорофілів проводили за методикою Річі з використанням спектрофотометра Ulab 102, Китай.

Маса мікроводоростей визначалася після висушування на аналітичних вагах ВЛА-200g-М (Україна).

Культивування *Chlorella vulgaris* проводили за використання лабораторної установки, яка запобігала надходженню сонячного світла.

Освітлення культури здійснювалось за допомогою комбінацій 10 або 20 світлодіодів: 1 - білі (колірна температура 5500 К), 2 - червоні/сині 3:2, 3 - сині/жовті/червоні/помаранчеві 2:2:5:1 відповідно, 4 - сині/червоні/зелені 1:1:1.

Результати та їх обговорення. Теоретично для оптимального розвитку культури мікроводоростей потрібно використовувати світлодіоди зі спектрами випромінювання, що відповідають довжинам хвиль поглинання пігментів. Оскільки у білому світлі присутні усі довжини хвиль, то білі світлодіоди обрані для порівняння з впливом інших комбінацій довжин хвиль. Виходячи з того, що комбінація червоних та синіх світлодіодів відповідає поглинанню основного пігменту хлоропластів - хлорофілу *a*, то її запропоновано як основу, до якої додавали інші світлодіоди з різними довжинами хвиль. Такий вибір пояснюється можливістю впливу опромінення на усі пігментні системи клітини.

У залежності від довжин хвиль видимого спектру, що використовували, змінюються розміри клітин та їх забарвлення. Так, при вирощуванні культури під дією опромінення білим світлом (1) клітини мали жовтувато-зелене забарвлення та найменший розмір – 2,5÷2,7 мкм. При культивуванні під дією сонячного світла клітини збільшуються в розмірі і досягають 2,8÷3,1 мкм. При цьому клітини, які вирощені за використання природного освітлення і освітлення білим світлом, не злипаються і не створюють колоній. При використанні освітлення комбінаціями світлодіодів червоного/синього (2) та синього/жовтого/червоного/помаранчевого (3) кольорів клітини мають зелений колір, їх розмір збільшується і досягає 3,7÷6,2 мкм. При цьому їх кількість у процесі культивування зменшується по відношенню до кількості клітин при освітленні культури природним світлом.

На рис. 1 наведено приріст біомаси за 14 діб культивування за застосування освітлення різними комбінаціями світлодіодів та інтенсивності. При низький інтенсивності освітлення (10 світлодіодів) максимальний приріст біомаси характерний для природного освітлення. По відношенню до природного освітлення за використання комбінації спектрів синього/червоного/зеленого світлодіодів приріст біомаси зменшується на 11%, комбінації синього/жовтого/червоного/помаранчевого – на 33%, білого – на 22 %, червоного/синього - на 45 %.

Підвищення приросту біомаси у випадку використання світлодіодної системи сині/червоні/зелені по відношенню до застосування інших комбінацій світлодіодів при збільшенні інтенсивності випромінювання (18 світлодіодів) пояснюється наявністю випромінювання, що характерно для зеленого кольору. Оскільки зелене освітлення сприяє фіксації CO_2 клітинами в глибині фотореактора та збільшує швидкість його перетворення в органічні речовини, що сприяє приросту біомаси. Також збільшується розмір клітин – 8-11 мкм.

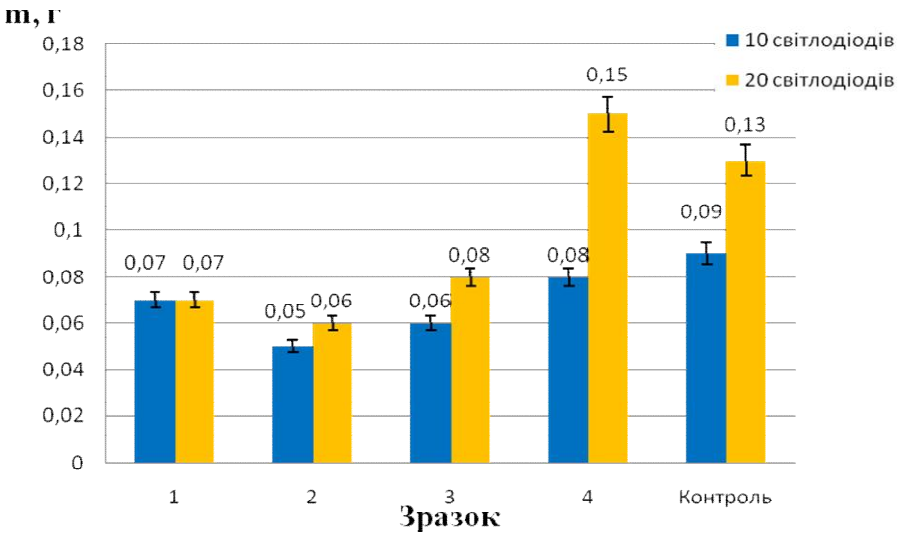


Рис. 2. Приріст біомаси Chlorella vulgaris (m) за 14 діб культивування при освітленні комбінаціями світлодіодів за низької інтенсивності (10 світлодіодів, сині стовпчики) та високої (20 світлодіодів, жовті стовпчики): 1 - білі, 2 - сині/червоні (2:3), 3 - сині/жовті/червоні/помаранчеві (2:2:5:1), відповідно, 4 - сині/червоні/зелені (1:1:1), контроль - природне освітлення.

Підвищення енергії освітлення удвічі (20 світлодіодів) підвищує приріст біомаси у випадку використання усіх комбінацій світлодіодів, окрім білих. Однаковий приріст біомаси при збільшенні кількості білих світлодіодів можливо пояснити високою потужністю освітлення малої поверхні фотореактора, що призводить до зниження інтенсивності розвитку культури і загибелі клітин мікроводоростей. Залежність приросту біомаси за використання різних комбінацій світлодіодів залишається такою ж, як і при меншій інтенсивності випромінювання, окрім комбінації синього/червоного/зеленого. За таких частот освітлення приріст біомаси перевищує кількість біомаси, що одержана при природному освітленні (сонячні дні) на 15 %.

Використання комбінацій світлодіодів з перевагою червоного кольору призводить до підвищеного вмісту хлорофілу *а* по відношенню до природного освітлення у 2-2,6 разів та хлорофілу *в* у 2,2-4,5 рази. Підвищення вмісту хлорофілів по відношенню до клітин, що вирощені під дією природного

освітлення, можна пояснити низькою інтенсивністю світла, що надають такі комбінації світлодіодів.

Наведені результати суперечать висновкам, що одержані іншими дослідниками, де максимальний приріст біомаси характерний для освітлення білими або синіми світлодіодами. Таку розбіжність можна пояснити різною інтенсивністю опромінення, що застосовували у роботах. Оскільки червоний спектр має знижену інтенсивність і, відповідно, для одержання коректних результатів для співставлення необхідно використовувати для них більшу потужність.

Висновки.

1. Показано, що підвищення інтенсивності освітлення комбінаціями світлодіодів призводить до збільшення приросту біомаси. За низької інтенсивності штучного освітлення максимальний приріст біомаси спостерігається за використання природного освітлення. При підвищенні інтенсивності освітлення до 950 Вт приріст біомаси за використання комбінації червоні/сині/зелені (1:1:1) перевищує приріст біомаси при природному освітленні на 15 %. Це дозволяє використовувати світлодіоди як системи освітлення у фотобіореакторах.

2. Освітлення комбінаціями світлодіодів з перевагою червоного світла призводить до підвищеного вмісту хлорофілу *а* по відношенню до природного освітлення у 2-2,6 разів та хлорофілу *в* у 2,2-4,5 рази.

Список літератури

1. Chen C.Y. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review / C.Y. Chen, K.L. Yeh, R. Aisyah, D.J. Lee, J.S. Chang // Bioresour. Technol. – 2011. – vol. 201. – № 3. – P. 71–81.

2. Stacey S. Willard. Microalgae Culture Using the DASGIP® PBR4 Module for Illumination with a New Brunswick™ CelliGen® 310 Stirred-tank Bioreactor / Stacey S. Willard, James J., Jean-François Hamel, Ma Sha. // Eppendorf AG. – 2014. – № 332. – P. 1–5.

3. Choul-Gyun Lee. High-Density Algal Photobioreactors Using Light-Emitting Diodes / Choul-Gyun Lee, Bernhard O. Palsso // Biotechnology and Bioengineering. – 1994. – vol. 44. – P. 1161–1167.

4. Li X. Effect of LED's red/blue light on the growth characteristic and lipid production of *Scenedesmus sp. LX1* / Li X1, Hu HY, Yang J. // Huan Jing Ke Xue. – 2010. – vol. 31. – № 2. – P. 513–519.

5. Caner Koç. Biodiesel Potential of *Chlorella Kessleri* Grown under LED and Fluorescent Illumination Sources / Caner K., Gary A. Anderson, Bulent K., Mustafa V. // Journal of agricultural Machinery Science. – 2011. – vol 7. – № 4. – P. 355–360.

ПРОБІОТИКИ НА ОСНОВІ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS*

Інна Лич, Ірина Волошина

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Анотація. Розглянуто біологічні властивості бактерій роду *Bacillus*, а також їх вплив на різні види організмів. Показано, що вони є перспективними для створення пробіотичних препаратів.

Обґрунтовано доцільність використання препаратів на основі бактерій роду *Bacillus* у різних галузях, а саме у медицині, сільському господарстві, тваринництві, птахівництві.

Ключові слова: пробіотики, *Bacillus*, мікрофлора, мікроорганізми.

Вступ. Серед ефективних пробіотиків все більшого використання набувають біопрепарати, основу яких складають бактерії роду *Bacillus*. Опубліковано багато повідомлень про високу ефективність препаратів на основі бацил як засобів лікування захворювань, викликаних патогенними та умовно патогенними мікроорганізмами [2].

Представників роду *Bacillus* вирізняє високий і різноманітний спектр біологічних активностей. Часто, володіючи явним антагонізмом до патогенних мікроорганізмів, вони продукують цілий ряд амілолітичних ферментів, пектини, целюлозу, жири, білки, утворюють різні амінокислоти і антибіотики [2].

Застосування в медицині. Відомо, що пробіотичні препарати, виготовлені на основі бацил є природними антагоністами патогенних мікроорганізмів. Зокрема вони проявляють високу активність по відношенню до мікроорганізмів родів *Staphylococcus* і *Candida*. Також ефективно діють на клінічні ізоляти таких таксономічних груп, як *Campylobacter*, *Yersinia*, ентеропатогенні *E. coli* [5]. Вони є найбільш фізіологічно активними,

екологічно чистими, практично нешкідливими і водночас високоефективними засобами корекції мікробіоценозу [5].

Бацили забезпечують суттєвий вплив на імунну реактивність макроорганізму. Вегетативні клітини і спори, проходячи в нижні відділи кишківника, стимулюють імунокомпетентні клітини і макрофаги, які відповідають підвищенням продукції інтерферонів і цитокінів [2]. Підвищення кількості ендогенного інтерферону в організмі справляє не тільки противірусну, але й антибактеріальну дію [2].

Використання в сільському господарстві. Препарати на основі бактерій роду *Bacillus* успішно застосуються для профілактики та лікування діарей, бактеріальних, вірусних і паразитарних хвороб, для корекції імунодефіцитних станів і покращення функціонування шлунково-кишкового тракту сільськогосподарських, домашніх і диких тварин (в тому числі птахів) [3]. Бацилярні пробіотики широко застосовують не тільки як препарати для лікування різних захворювань, але й як стимулятори росту. Їх доцільно використовувати як кормові засоби, біологічні регулятори метаболічних процесів організму тварин і птиці. Також біопрепарати на основі бацил застосовують як альтернативу антибіотикам для профілактики і лікування шлунково-кишкових хвороб інфекційної природи та інших видів диспепсій молодняку сільськогосподарських тварин і птиці [6].

Використовують їх і для нормалізації мікрофлори організму тварин, особливо за умов промислового ведення тваринництва, птахівництва, свинарництва [6].

Використання в тваринництві. Серед захворювань, поширених в тваринницьких господарствах, одне з перших місць займають хвороби шлунково-кишкового тракту новонароджених телят, які призводять до великих економічних збитків. Пробіотики, нормалізуючи мікрофлору кишківника тварин, пригнічують розвиток патогенної кишкової палички і гнилісних бактерій [7].

Призначення телятам бацилярного препарату з перших діб життя забезпечує профілактику шлунково-кишкової патології. При застосуванні препарату збереженість телят, за умови виникнення шлунково-кишкових хвороб, підвищується на 15–28,6 %, при респіраторній патології – на 8,3–16,7 %, строки лікування скорочуються на 3–5 діб, стимулюється клітинний і гуморальний імунітет, попереджаються рецидиви захворювання. Введення бацилярного препарату в раціон телят більш дорослого віку покращує продуктивне здоров'я тварин [7].

Бацилярні пробіотики використовуються і як імуномодулятори в свинарництві. Вони вирішують проблеми нормалізації травлення при відлученні поросят, а також при переході з одного корму на інший; стимулюють ріст і розвиток власної корисної мікрофлори: кишкових целюлозолітичних румінококів, лактобацил; гідролізують крохмаль; збільшують споживання кормів і продуктивність тварин. Отже, в результаті споживання бацилярних препаратів активуються обмінні процеси в організмі тварин, що призводить до стимулювання синтезу амінокислот і вітамінів, синтезуються ферменти і антибіотичні субстанції, що пригнічують патогенну мікрофлору. Результатом такої профілактики є: засвоюваність корму підвищується до 15 %, приріст живої маси до 15 %, забезпечується збереження молодняку тварин [7].

Використання в птахівництві. Широкого розповсюдження набули пробіотики на основі бацил у птахівництві [5]. Оригінальність механізму дії препаратів на їх основі полягає в тому, що майже одразу після прийому препарату починають виділятися біологічно активні речовини, які безпосередньо впливають на патогенні та умовно патогенні мікроорганізми, в той же час, паралельно відбувається активація специфічних і неспецифічних систем захисту макроорганізму [2, 3]. Також бактеріальні клітини пробіотика, які можуть розглядатися як біокаталізатори багатьох життєво важливих процесів в травному тракті, активно продукують ферменти, амінокислоти,

антибіотичні речовини та інші фізіологічно активні субстанції, які мають здатність нейтралізувати токсини і стимулювати імунні реакції [2, 3, 5].

У промисловому птахівництві для профілактики захворювань, збереження птиці, підвищення їх продуктивності проводять вакцинації, дегельмінтизації, часто застосовують антибіотики та інші хіміопрепарати. Більшість з них негативно впливають на організм птиці, часто викликаючи дисбактеріози [8]. Тому доцільно використовувати пробіотики, які позитивно впливають на нормальну мікрофлору, характеризуються виразним клінічним ефектом при лікуванні ряду гострих кишкових інфекцій.

Таким чином пробіотики на основі бактерій роду *Bacillus* захищають здоров'я молодняка птиці, формуючи і підтримуючи стабільну нормальну мікрофлору кишківника з перших годин (днів) життя. Аерозольним обробленням бацилярними пробіотиками яєць забезпечують сприятливе середовище в інкубаторі [7].

Біопрепарати на основі бацил використовуються для стимуляції росту курчат, для профілактики і терапії стафілококової, сальмонельозної, колібактеріозної та синьогнійної інфекцій [8].

Також бацилярні пробіотики використовуються як кормові добавки при вирощуванні птиці. Дані біопрепарати сприяють: підвищенню середньодобових приростів курчат; поліпшенню перетравлювання їжі і зниженню витрат кормів; збільшенню виходу м'яса; поліпшенню економічних показників при вирощуванні курчат [8].

Висновки. Бацилярні пробіотики використовуються в медицині та сільському господарстві для вигодовування великої рогатої худоби, свиней та птахів. Біопрепарати на основі бацил використовуються як кормові добавки для стимуляції росту тварин, а також для профілактики і терапії різних інфекційних захворювань. Важливою особливістю пробіотиків на основі бацил є їх здатність стимулювати імунну відповідь організму, підвищувати протиінфекційну стійкість організму та регулювати і стимулювати травлення. Крім того,

пробіотики при правильному використанні дозволяють відмовитися від антибіотиків.

Список літератури

1. *Філімонова Н.І., Дика О.М., Місюрьова В.О., Єлааті М.М.* Рівень антимікробної здатності пробіотиків залежно від кислотно-лужної рівноваги// Укр. біофарм. журнал – 2011, №6. - С. 42-45

2. *Похиленко В.Д., Перелыгин В.В.* Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность // Хим. и биолог. безопасность. – 2007. - № 2-3. – С. 20-36.

3. *Katz E., Demain A.L.* The peptide antibiotics of Bacillus: chemistry, biogenesis and possible function // Bacteriol. Rev. – 1997. – V. 41. – P. 449-474.

4. *Смирнов В.В., Сорокулова И.Б., Пинчук И.В*. Бактерии рода *Bacillus* перспективный источник биологически активных веществ // Мікробіол. Журн. – 2001. – Т. 63, № 1.- С. 72-79.

5. *Пат.* UA 26834. Штам *Bacillus subtilis* для виготовлення пробіотиків / Стегній Б.Т., Бабкін М.В., Гужвинська С.О. – Опубл. 10.10.2007.

6. *Гарда С.О., Даниленко С.Г., Литвинов Г.С.* Біотехнологічні аспекти аналізу мікрофлори сільськогосподарської птиці // Biotechnologia ACTA. – 2014. - № 4. – С. 25-34.

7. *Самсоненко Ю.С., Міланко Г.О.* Бацилярний препарат субтіліс ВПН 44 і його використання серед поголів'я великої рогатої худоби // Вісник СНАУ. – 2010. – № 3. – С. 119-122.

8. *Степанова А.М.* Применение пробиотика из штаммов бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 и *Bacillus subtilis* ТНП-5 в птицеводстве: Автореф. дис. канд. ветеринар. наук. – Якутск, 2011.

ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ ТА РОСТУ *IN VITRO* ДЕЯКИХ ВИДІВ ПОКРИТОНАСІННИХ РОСЛИН

Михайло Магдисюк

Київський Палац Дітей та Юнацтва, м. Київ,Україна

Анотація. Робота присвячена дослідженню та порівнянню ефективності культивування та вирощування в умовах *in vitro* рослин *Anethum graeveolens, Cucurbita pepo, Ocimum basilicum, Rumex Acetosa, Trigonella foenum-graecum, Levisticum officinale* та *Dianthus caryophyllus*

Ключові слова: культивування *in vitro*; *in vitro cultivation*; *Anethum graeveolens; Cucurbita pepo; Ocimum basilicum; Rumex Acetosa; Trigonella foenum-graecum; Levisticum officinale*; *Dianthus caryophyllus*

Вступ. Культивування різноманітних сільськогосподарських та технічних культур рослин завжди було важливою галуззю світового господарства. Найбільш давній та найбільш розповсюджений на сьогоднішній день спосіб отримання цінних культур рослин, це вирощування *in vivo,* тобто у грунті. Але такі рослини значно залежать від природних умов, вони вразливі до різноманітних фітопатогенних мікроорганізмів, паразитів та шкідників. Багато цінних культур є досить вибагливими або мають низьку швидкість росту. До того ж в наші дні рослини все ширше застосовуються в біотехнології та стають об’єктами наукових досліджень . Очевидно, що для гарантії достовірності таких досліджень рослини повинні бути ізольовані від оточуючого середовища. Власне в таких випадках і доцільно використовувати технологію *in vitro,* з переваг якої можна виділити:

* Максимальна експлуатація на мінімальній території.

* Гарантія захисту від шкідників, паразитів та фітопатогенних мікроорганізмів.

* Зниження забруднення отруйними газами, важкими металами, пестицидами, гербіцидами тощо.

* Можливість вирощування ізольованих культур клітин, тканин.

Технологія *in vitro* досить розповсюджена у сучасному науковому світі та знайшла використання у багатьох галузях сучасної біотехнології. На сьогоднішній день значна кількість видів рослин була успішно культивована *in vitro*, їх вирощування є достатньо доцільним та актуальним через їх специфічні властивості. До таких рослин належать такі види як Кріп Пахучий (*Anethum graeveolens*), Гарбуз Звичаний (*Cucurbita pepo*), Базилік Духмяний (*Ocimum basilicum*), Щавель Кислий (*Rumex Acetosa*), Гуньба Сінна (*Trigonella foenum-graecum*), Любисток Лікарський (*Levisticum officinale*), Гвоздика Садова (*Dianthus caryophyllus*). Всі вищенаведені види рослин мають значну сільськогосподарську або фармацевтичну цінність [1-7], тому їх культивування та вирощування в умовах *in vitro* є цілком актуальним.

Отже, **метою** данного дослідження було отримати асептичні культури рослин *Anethum graeveolens, Cucurbita pepo, Ocimum basilicum, Rumex Acetosa, Trigonella foenum-graecum, Levisticum officinale* та *Dianthus caryophyllus,* як характерних представників відповідних родин та порівняти ефективність їх введення та росту в культурі *in vitro* на живильному середовищі Мурасіге та Скуга.

Матеріали і методи дослідження. Вихідним матеріалом слугувало насіння вищезазначених рослин *Ocimum basilicum, Rumex Acetosa, Trigonella foenum-graecum, Levisticum officinale, Dianthus caryophyllus* фірми «Елітсорт насіння», насіння *Anethum graeveolens* фірми «Ліктрави» та насіння *Cucurbita pepo*, зібранного восени 2014 року в Київській області. Асептичні рослини отримували шляхом поверхневої стерилізації насіння. Для цього насіння послідовно витримували в 70 % етанолі (30 сек.), 25 % розчині комерційного препарату “Білизна” (10 хв) та промивали тричі по 10 хв. в стерильній дистильованій воді. Простерилізоване у такий спосіб насіння пророщувалося в чашках Петрі на агаризованому безгормональному середовищі МС [8] при температурі 26 ^{o}C. Після чого вимірювались швидкість та енергія проростання насіння. Енергія проростання насіння підраховувалася як відношення насінин, що проросли (за весь період часу) до загальної кількості висаджених насінин.

Результати і обговорення. Рослини видів *Anethum graeveolens, Cucurbita pepo, Ocimum basilicum, Rumex Acetosa, Trigonella foenum-graecum, Levisticum officinale* та *Dianthus caryophyllus* були успішно введені в культуру *in vitro* шляхом поверхневої стерилізації насіння. Показники швидкості та енергії проростання досліджуваних рослин наведено на рисунках 1 та 2 відповідно.

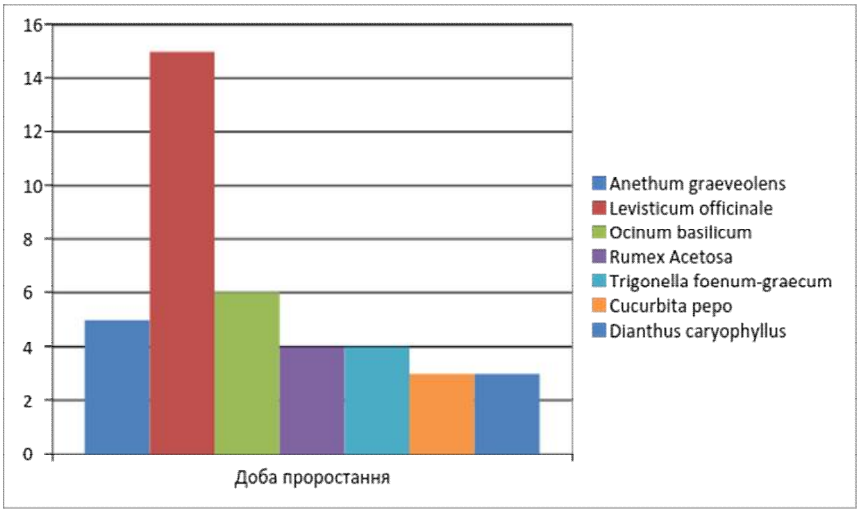


Рис. 1. Швидкість проростання рослин Anethum graeveolens, Cucurbita pepo, Ocimum basilicum, Rumex Acetosa, Trigonella foenum-graecum, Levisticum officinale та Dianthus caryophyllus

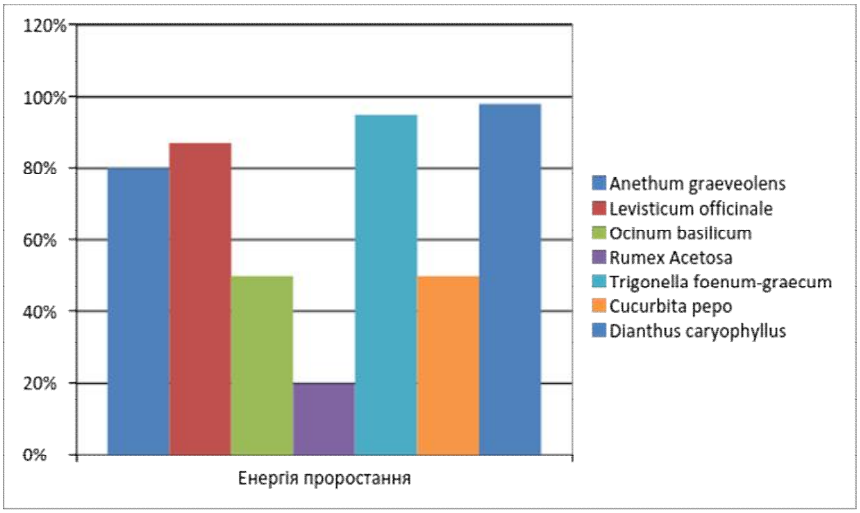


Рис. 2. Енергія проростання рослин Anethum graeveolens, Cucurbita pepo, Ocimum basilicum, Rumex Acetosa, Trigonella foenum-graecum, Levisticum officinale та Dianthus caryophyllus

Найменшу швидкість проростання показали рослини *Levisticum officinale,*а найнижча енергія проростання спостерігалася у рослин *Rumex Acetosa*, що може свідчити про недостатню ефективність використованого методу отримання асептичних рослин та вирощування їх в культурі *in vitro* по відношенню до данних видів. Найбільшу ефективність культивування в умовах *in vitro* показали, такі рослини як *Trigonella foenum-graecum* та *Dianthus caryophyllus,* що робить їх найбільш переспективними об'єктами подальших досліджень. Нище на рисунку 3 наведено фото досліджуваних видів рослин, культивованих *in vitro* на середовищі Мурасіге та Скуга.

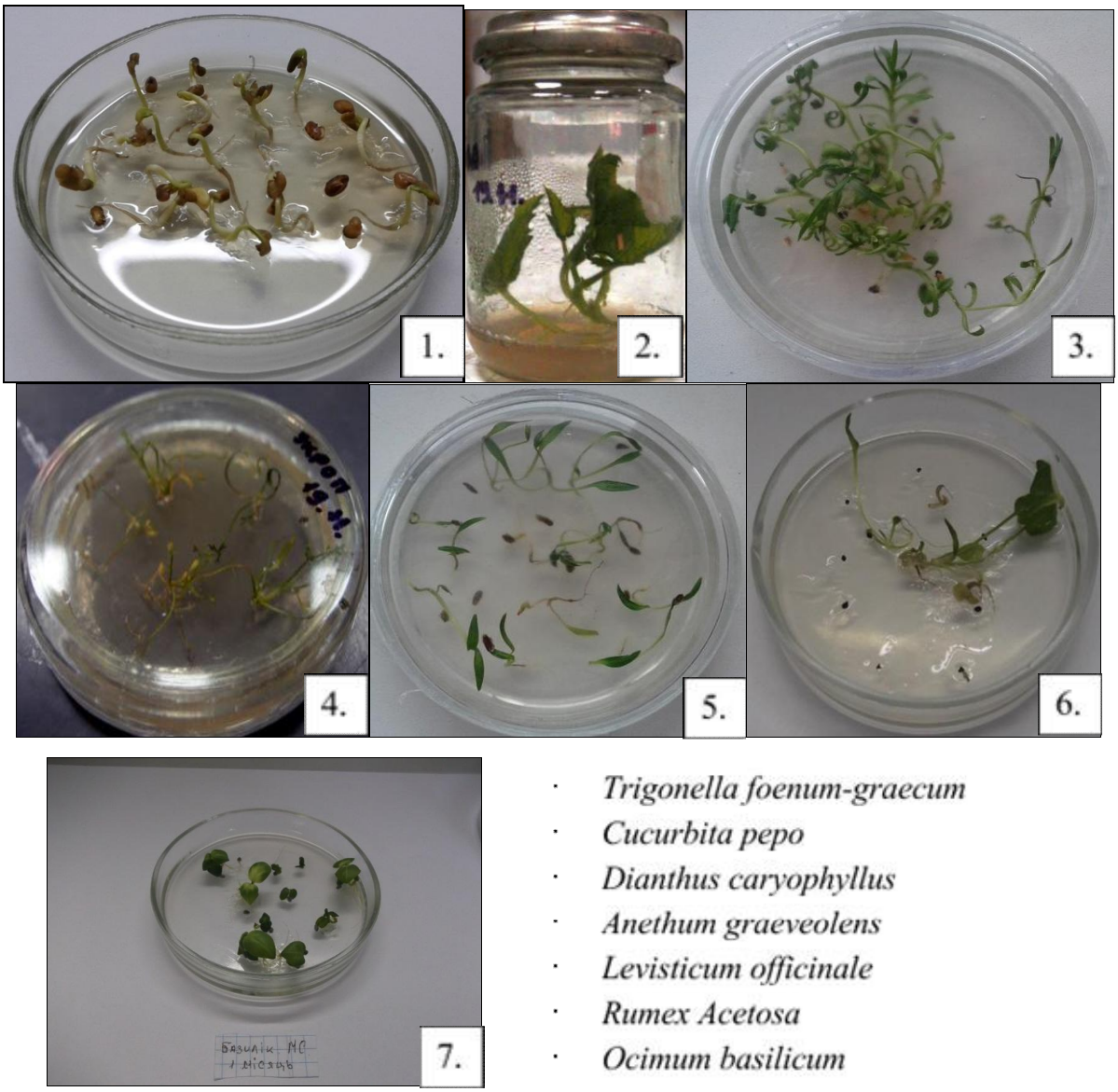


Рис. 3. Досліджувані рослини, культивовані *in vitro* на середовищі Мурасіге та Скуга

Висновки. Показана можливість успішного введення рослин *Anethum graeveolens, Cucurbita pepo, Ocimum basilicum, Trigonella foenum-graecum, Levisticum officinale* та *Dianthus caryophyllus* в культуру *in vitro* методом поверхневої стерилізації насіння. Рослини *Levisticum officinale* та *Rumex acetosa* показали недостатню ефективність культивування *in vitro* з використанням вищезазначеного методу.

Список літератури

1. Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi*/Gurinder J Kaur, Daljit S Arora // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2009. Vol 9, № 30. – P. 1-10.

2. African Cucurbita pepo L.: properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil/Y.M.H Younisa, Seniat Ghirmay, S.S Al-Shihryc // Phytochemistry. – 2000. – Vol.1, № 1. – P. 71-75.

3. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations/Abdullah Ijaz Hussain, Farooq Anwar, Syed Tufail Hussain Sherazi, Roman Przybylski // Food Chemistry. – 2008. – Vol. 108, № 3. – P. 986-995.

4. Isolation of Hydroxyanthrones from the Roots of *Rumex acetosa* Linn/Michiko Tamano, Jugo Koketsu// Agric. Biol.Chem. – 1982. – Vol. 46, № 7. – P. 1913-1914.

5. Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats / Jamal Ahmed Abdel-Barrya, Issa Abed Abdel-Hassana, Mohammad H.H. Al-Hakiem // Journal of Ethnopharmacology. – 1997. – Vol. 58, № 3. – P. 149-155.

6. Antimycobacterial polyacetylenes from *Levisticum officinale*/Andreas Schinkovitz, Michael Stavri, Simon Gibbons, Franz Bucar // Phytother Res. – 2008/. – Vol. 22, № 5. – P. 681-684.

7. Flavonoids from carnation (*Dianthus caryophyllus*) and their antifungal activity / Francesco Galeotti, Elisa Barile, Paolo Curir, Marcello Dolci, Virginia Lanzotti // Phytochemistry Letter. – 2008. – Vol.1, № 1. – P. 44-48.

8. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol.15, № 3. – P. 473 − 497.

БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ СПОСІБ СТИМУЛЯЦІЇ ВІДТВОРЮВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ СВИНОМАТОК

Оксана Пилипчук, Віктор Шеремета

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

Анотація. Встановлено, що одноразове введення свиноматкам в день відлучення препарату Інтровіт у дозі 0,05 мл/кг в поєднанні з згодовуванням « Глютаму 1М у загальній дозі 0,28 мл/кг протягом 3-х діб після відлучення поросят сприяє збільшенню заплідненості дослідних свиноматок порівняно з контрольними на 19,6 %, та скороченню холостого періоду на одну добу.

Ключові слова: свиноматка, холостий період, заплідненість, препарат, Інтровіт, Глютам 1М, підсисний період.

Вступ. Ефективність використання свиноматок залежить в першу чергу від тривалості їх експлуатації та кількості одержаних від них поросят. На ці показники великий вплив має заплідненість. Відомо, що на нормальне функціонування органів розмноження свиней, відтворювальні та продуктивні якості самок, а також на якість потомства, отримане від них, впливає безліч чинників.

В цілому на відтворний потенціал свиноматок впливає ряд біологічних факторів (кількість овуляцій, пренатальна смертність, вік осіменіння, гормональний статус, кондиція, генотип, розмір матки, інфекції), а також біотехнологічних (заплідненість, тривалість підсисного періоду, якість сперми, точність визначення часу статевої охоти) [3].

Серед цих ознак заплідненість свиноматок – один з основних показників ефективності роботи зооветеринарної служби в умовах племінних та виробничих комплексів. Від цього показника залежить ритм всієї роботи

підприємства, кількість одержаного приплоду та реалізованого молодняку, а також ремонт власного стада [2].

Рівень заплідненості свиноматок в різних господарствах коливається в значній мірі залежно від умов утримання та годівлі. Тому постійно розробляються способи стимуляції овуляції та приживлення ембріонів в статевих шляхах самки від яких залежить заплідненість.

Так, встановлено[4], що препарат Селемаг, який містить комплекс вітаміну Е і селену позитивно впливає на фізіологічний стан відлучених свиноматок, тварини одночасно приходять в охоту і їх заплідненість підвищується на 6,8%. Внутрішньом'язеве введення біологічно активного препарату метаболічно-нейротропної дії Глютам 1М у дозі 10 мл сприяло збільшенню на 10 % рівня заплідненості свиноматок. Згодовування цього ж препарату протягом 3-х днів, починаючи з другого дня осіменіння, забезпечує заплідненість свиноматок на рівні 96,6 %, що більше на 13,3 %, ніж у контролі [4, 5, 6].

Тому розробка нових схем та пошук різних препаратів, які сприяли б збільшенню заплідненості свиноматок в різних умовах утримання та годівлі актуально, оскільки має значне економічне та селекційне значення.

Мета роботи полягала у розробці нової схеми стимуляції заплідненості свиноматок біологічно активним препаратом нейротропно-метаболічної дії.

Матеріали і методика дослідження. Дослідження проводили на свиноматках порід велика біла та ландрас.

Було сформовано контрольну і дослідну групи свиноматок по 70 тварин з різною кількістю опоросів (від 1 до 5). У групи відбирали свиноматок відразу після відлучення поросят.

Групи формували за принципом груп-аналогів за породою, вгодованістю, багатоплідністю та кількістю опоросів. Свиноматки мали середню вгодованість та живу масу 190–230 кг.

Після відлучення поросят свиноматок утримували в індивідуальних станках. У день відлучення контрольним і дослідним свиноматкам одноразово внутрішньом'язево вводили вітамінізований препарат Інтровіт у дозі 0,05 мл/кг маси тіла, незалежно від живої маси та вгодованості тварин. Перші три дні їх не годують. У цей період дослідні свиноматки отримували препарат у 0,28 мл/кг маси тіла препарату Глютам 1М, а контрольні 0,28 мл/кг фізіологічного розчину (табл.1).

Таблиця 1. Схема введення препаратів Інтровіт та Глютам 1М піддослідним свиноматкам

Група	n	Препарат	Доза, мл/кг	Дні введення
Контрольна	70	Інтровіт	0,05	у день відлучення
		Фізіологічний розчин	0,028	1-3 доба після відлучення
Дослідна	70	Інтровіт	0,05	у день відлучення
		Глютам 1М	0,028	1-3 доба після відлучення

Тварин, які прийшли в охоту визначали за допомогою кнура-пробника два рази на добу. Вибраних свиноматок штучно осіменяли попередньо розбавлено спермою два рази з інтервалом 18 годин. Через 25–27 днів після осіменіння, у свиноматок визначали поросність за допомогою ультразвукового дослідження.

Результати досліджень. Аналіз отриманих даних показав, що заплідненість дослідних свиноматок була вірогідно більшою порівняно з контрольними на 19,6 %. Тривалість холостого періоду у дослідних тварин була коротшою на одну добу (табл. 2).

Отже, спільне використання вітамінних і нейротропно-метаболічних препаратів зумовлює вірогідне збільшення заплідненості та тенденцію до скорочення холостого періоду.

Таблиця 2. Заплідненість піддослідних свиноматок

Показник	*Група, n=70*	
	контрольна	дослідна
Холостий період, діб	5,9±1,59	4,9±0,57
Поросні, гол.	49	63
Холості, гол.	21	7
Заплідненість, %	70,4±5,45	90,0±3,58*

Примітка. *$p \leq 0,01$ – порівняно з контролем;

Враховуючи те, що групи піддослідних свиноматок формувалися з самок двох різних порід – велика біла та ландрас, нами було проаналізовано вплив Глютаму 1М на їх відтворювальну здатність (табл. 3).

Таблиця 3. Заплідненість піддослідних свиноматок залежно від породи

Показники	Групи, n=35			
	велика біла		ландрас	
	контрольна	дослідна	контрольна	дослідна
Холостий період, діб	6,1±1,15	4,7±0,48	5,6±0,97	5,1±0,97
Поросні, гол	25	33	25	30
Холості, гол	11	2	10	5
Заплідненість, %	68,6±7,85	94,3±3,93	71,4±7,63	85,7±5,92

У дослідних свиноматок великої білої породи тривалість холостого періоду була коротшою на 1,4 доби, а заплідненість вищою на 25,7 %. У ландрасів ця різниця була значно меншою – на 0,5 діб скоротився холостий період, а заплідненість підвищилась на і 14,3 % порівняно з контролем.

Отже нейротропно-метаболічний препарат зумовлює тенденцію до зниження холостого періоду та збільшення заплідненості незалежно від породи свиноматок. Слід відмітити, що ефективність дії препарату дещо вища за згодовування його свиноматкам великої білої породи.

Оскільки технологічний регламент в комплексі зумовлює різну тривалість підсисного періоду, провели аналіз досліджуваних показників у свиноматок з різною його тривалістю.

У піддослідних свиноматок тривалість підсисного періоду коливалася в межах 20-32 діб. Для визначення впливу тривалості підсисного періоду на відтворювальну здатність, свиноматок кожної групи розділили на дві підгрупи – 20-25 та 26-32 діб.

Згідно літературних джерел [2], оптимальний термін підсисного періоду у свиноматок, яких утримують в умовах виробництва є 35 діб (допустимо від 26 до 45), а тривалість холостого періоду у свиноматок становить в середньому 7 діб впродовж яких в статеву охоту приходить до 90% маток.

У контрольних тварин, в яких підсисний період тривав 20-25 діб заплідненість була нижчою на 13,8% порівняно з тривалістю 26-32 діб. У дослідних тварин між цими підгрупами різниці майже не спостерігається (табл. 4).

Таблиця 4. Заплідненість піддослідних свиноматок залежно від тривалості підсисного періоду

Показник	Група			
	контрольна		дослідна	
	підсисний період, дні			
	20-25	26-32	20-25	26-32
Кількість тварин, гол.	32	38	35	35
Поросні, гол.	20	29	31	32
Холостий період, діб	6,0±1,69	5,8±1,55	5,2±0,59	4,7±0,52
Заплідненість%	62,5±8,55	76,3±6,89	88,6±5,36	91,4±4,73

Введення відлученим свиноматкам нейротропно-метаболічного препарату, сприяє скороченню холостого періоду та кращій заплідненості тварин як за короткого підсисного періоду, так і довшого. У дослідних

свиноматок, у яких підсис тривав 20-25 діб холостий період був коротший на 0,8 доби, а заплідненість вищою на 26,1 % порівняно з контролем. При тривалості підсису 26-32 доби – холостий період у дослідних свиноматок скоротився на 1,1 добу, а заплідненість підвищилася на 15,1 %.

Отже, у дослідних тварин з різною тривалістю підсисного періоду спостерігається тенденція до поліпшення досліджуваних показників відтворювальної здатності. Це свідчить про те, що на фоні вітамінізації організму свиноматок, нейротропно-метаболічний препарат проявляє позитивну дію на статеву систему незалежно від тривалості підсисного періоду.

Біологічну дію препарату Глютам 1М слід розглядати залежно від морфо-функціональних змін в організмі свиноматок. Після відлучення поросят в нервовій системі свиноматок домінанта лактації переключається на відтворну, що зумовлює активізацію гіпоталамуса який починає виділяти в більшій кількості рилізинг-гормони фолітропіну та лютропіну які стимулюють секрецію цих гонадотропних гормонів аденогіпофізом. Гонадотропні гормони стимулюють ріст фолікулів та розвиток ооцитів, в результаті чого в межах 3-15 днів після відлучення поросят, у свиноматок наступає статева охота та овуляція.

Враховуючи дослідження [1], щодо впливу нейротропно-метаболічного препарату на біохімічний і гормональний статус свиноматок можна припустити, що ведення в організм свиноматок відразу після відлучення поросят препаратів «Інтровіт» та «Глютам 1М» сприяє збільшенню енергетичного потенціалу гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової вісі. Це зумовлює збільшення вмісту гонадотропних гормонів в організмі свиноматок в наслідок чого збільшується кількість фолікулів на яєчниках і їх овуляція, поліпшується морфофункціональний стан матки. Все це стимулює імплантацію ембріонів у статевих шляхах самки, а значить і заплідненість свиноматок.

Висновок. Одноразове введення свиноматкам в день відлучення препарату Інтровіт у дозі 0,05 мл/кг в поєднанні з згодовуванням Глютаму 1М у загальній дозі 0,28 мл/кг маси тіла протягом 3-х діб після відлучення поросят сприяє збільшенню заплідненості дослідних свиноматок порівняно з контрольними на 19,6 %, та скороченню холостого періоду на одну добу.

Список літератури

1. *Безверха Л. М.* Удосконалення біотехнологічного способу впливу на відтворну систему свиноматок за дії метаболічно-нейротропних препаратів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук : спец. 03.00.20 «Біотехнологія» / *Л. М. Безверха*. – Біла Церква, 2014. – 19, [1] с.

2. *Мельник В.О.* Технологія відтворення свиней в умовах племінних господарств / *Мельник В. О., Бондарь А. О., Кравченко О. О.* // Збірник наукових праць ХДЗВА "Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. – Вип. 22. – Ч. 1. – Т. 1. Сільськогосподарські науки. – Харків, 2011. – С. 153–159.

3. *Меликова Ю. Н.* Повышение воспроизводительной функции свиней: монография / *Ю. Н. Меликова, Н. А. Писаренко, В. С. Скрипкин*. – Ставрополь: АГРУС, 2011. – 104 с.

4. *Нарижный А. Г.* Показатели воспроизводства свиноматок при применении препарата Селемаг / А. *Г. Нарижный, Н. И. Крейдлина, А. Ч. Джамалдинов и др.* // Актуальные проблемы производства свинины в Российской Федерации : сб. науч. тр. – пос. Персиановский, 2006. – С. 95 –97.

5. *Шеремета В.І.* Відтворна здатність свиноматок за використанн біологічно активних препаратів / *В. І. Шеремета, О. А. Сапіга* // Науковий вісник НУБіПУ.–2009.– випуск 136.–С. 210–214.

6. *Шеремета В. І.* Заплідненість свиноматок великох білої породи за використання біологічно активного препарату // *В. І. Шеремета, Л. М. Безверха* // Збірник наукових праць ВНАУ. - 2011. – випуск № 8 (48).

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ПОЗАКЛІТИННИХ МЕТАБОЛІТІВ *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMB AC-5017, *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 І *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405 У СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ

Тетяна Пирог

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ, Україна

Наталія Леонова, Тетяна Шевчук, Галина Іутинська

Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ, Україна

Abstract. The possibility of simultaneous synthesis of surfactants with antimicrobial properties and phytohormones (auxins, cytokinins and abscisic acid) by *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 and *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 was established. It was shown that the survival of cells (10^5–10^7 in a milliliter) of the *Pseudomonas* and *Xanthomonas* phytopathogenic bacteria was found to be 0–33% after treatment with surfactant solution (0/08−0.15 mg/mL) for 2 h. The dependence of auxins and cytokinins concentration on the nature of carbon source in the medium cultivation (ethanol, glycerol, refined and frying sunflower oil) and method of separating surfactants was shown.

Keyworlds: surfactants, antimicrobial action, phytopathogenic bacteria, phytohormones.

Вступ. В останнє десятиріччя спостерігається підвищення резистентності патогенних мікроорганізмів до відомих біоцидів, що зумовило пошук нових альтернативних антимікробних препаратів. З літератури відомо, що такими препаратами є мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) [1, 2]. Завдяки

екологічній безпечності ПАР мікробного походження можуть бути використані у медицині, агропромисловому секторі та харчовій промисловості [1−4].

В основному в літературі зустрічаються повідомлення про антифунгальну активність ПАР [5, 6], але крім грибкових захворювань, сільськогосподарські культури все частіше вражають бактеріози [7].

У попередніх дослідженнях [8, 9] нами було встановлено, що поверхнево-активним речовинам, синтезованим *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 і *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 притаманна антимікробна активність щодо ряду мікроорганізмів.

У роботі [10] було показано, що у деяких випадках обробка суспензії тест-культур супернатантом, що містив ПАР, супроводжувалася збільшенням кількості живих клітин порівняно з їх чисельністю до внесення поверхнево-активних речовин. Такі несподівані результати дали змогу припустити, що досліджувані штами-продуценти ПАР, крім комплексу поверхнево-активних речовин синтезують й інші біологічно активні речовини, зокрема, фітогормони.

Мета даної роботи – дослідити антимікробну дію поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 і *N. vaccinii* IMB B-7405 щодо фітопатогенних бактерій, а також здатність штамів до синтезу фітогормонів.

Матеріали і методи. *R. erythropolis* IMB Ac-5017 вирощували в рідкому мінеральному середовищі (г/л): $NaNO_3$ – 1,3, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1; NaCl – 1,0; Na_2HPO_4 – 0,6; KH_2PO_4 – 0,14; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,01; pH 6,8–7,0.

Для культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 використовували поживне середовище наступного складу (г/л): $(NH_2)_2CO$ – 0.35, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.1, NaCl – 1.0, Na_2HPO_4 – 0.6, KH_2PO_4 – 0.14, pH 6.8–7.0. У середовище додатково вносили дріжджовий автолізат − 0.5 % (об’ємна частка) і розчин мікроелементів − 0.1% (об’ємна частка).

Штам *N. vaccinii* ІМВ В-7405 вирощували у поживному середовищі (г/л): $NaNO_3$ – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1; $CaCl_2$ – 0,1; KH_2PO_4 – 0,1; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1; дріжджовий автолізат − 0,5% (об'ємна частка).

Джерело вуглецю – етанол, гліцерин, рафінована і відпрацьована після смаження м'яса соняшникова олія у концентрації 1−2 % (об'ємна частка).

У роботі використовували фітопатогенні бактерії з Української колекції мікроорганізмів (УКМ): *Pectobacterium carotovorum* УКМ В-1095, *Pseudomonas syringae* УКМ В-1027, *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1015, *P. syringae* pv. *coronafaciens* – УКМ В-1154, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049. Об'єктами дослідження також були фітопатогенні бактерії з колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України: *P. corrugate* 9070, *P. savastanoi* pv. *glycinea* 8571, *X. translucens* pv. *translucens* 7696, *X. vesicatoria* 7790. Штами фітопатогенних бактерій були люб'язно надані співробітниками відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

З супернатанту культуральної рідини, що містить ПАР (препарат 1), екстракцією сумішшю хлороформу і метанолу у співвідношенні 2:1 (суміш Фолча) виділяли ПАР (препарат 2). Водна фаза, що залишилася після екстракції ПАР, умовно названа нами препарат 3 .

Антимікробні властивості препаратів визначали так. У вихідній суспензії однодобових фітопатогенних тест-культур, вирощених на агаризованому середовищі (сусло-агар та м'ясо-пептонний агар у співвідношенні 1:1) при 30 °С визначали кількість живих клітин за методом Коха (колоній- утворюючі одиниці, КУО/мл). Потім по 1.5 мл суспензії тест-культури поміщали в пробірки, додавали по 1.5 мл препаратів 1−3 і витримували упродовж 1 і 2 год при температурі, оптимальної для росту тест-культури, після чого визначали кількість живих клітин. Виживання фітопатогенних бактерій визначали як

відношення кількості клітин у варіантах, оброблених препаратами 1−3, до кількості клітин у вихідній суспензії і виражали у відсотках.

Результати та обговорення. На першому етапі досліджували вплив ПАР різного ступеня очищення на фітопатогенні бактерії родів *Xanthomonas*, *Pseudomonas* і *Pectobacterium* У табл. 1 наведено дані щодо виживання фітопатогенних бактерій за наявності препаратів *A. calcoaceticus* IMB B-7241 у вигляді супернатанту (препарат 1) і розчину ПАР (препарат 2).

Таблиця 1. Вплив ПАР штаму IMB B-7241 на деякі фітопатогенні бактерії родів Xanthomonas, Pseudomonas і Pectobacterium

Тест-культура	Препарат	Виживання клітин (%) через	
		1 год	2 год
X. campestris pv. *campestris* УКМ B-1049	1	20	Н.в.
	2	18	Н.в.
X. vesicatoria 7790	1	2	0
	2	0	0
P. syringae УКМ B-1027	1	27	18
	2	35	9
P. corrugate 9070	1	97	93
	2	75	26
P. syringae pv. *coronafaciens* УКМ B-1154	1	100	35
	2	34	33
P. carotovorum УКМ B-1095	1	94	57
	2	95	33

Експерименти показали, що найефективнішим щодо фітопатогенних бактерій виявився препарат 2 – розчин ПАР, причому його антимікробна дія підвищувалася зі збільшенням тривалості експозиції. Аналогічні результати отримані й у разі використання ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017. Дещо інші закономірності спостерігали за дії ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 на бактерії родів родів *Xanthomonas* і *Pseudomonas*. По-перше, обробка препаратами штаму IMB

В-7405 супроводжувалася загибеллю значної кількості клітин (80 % і вище). По-друге, антимікробна дія препарату 1 і 2 виявилася практично однаковою, а в деяких випадках препарат 1 виявився більш ефективним. По-третє, з досліджених препаратів ПАР всіх штамів препарати *N. vaccinii* IMB B-7405 проявляли найвищу антимікробну активність.

На наступному етапі досліджували вплив на фітопатогенні бактерії препарату 3 (водна фаза, що залишилася після екстракції ПАР із супернатанту культуральної рідини) штамів *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 і *N. vaccinii* IMB B-7405 . Зазначимо, що після обробки суспензії тест-культур *P. syringae* pv. *coronafaciens* УКМ B-1154, *X. vesicatoria* 7790, *P. corrugate* 9070, препаратами 3 усіх досліджуваних штамів спостерігали істотне збільшення кількості клітин, що може бути зумовлене тим, що штами-продуценти ПАР, крім поверхнево-активних речовин, синтезують ряд інших біологічно активних речовин, у тому числі й тих, що стимулюють ріст мікроорганізмів.

Таблиця 2. Синтез позаклітинних фітогормонів під час культивування N. vaccinii IMB B-7405 на різних вуглецевих субстратах

Джерело вуглецю у середовищі культиву-вання	Ауксини, мкг/л		Цитокініни, мкг/л		Абсцизова кислота, мкг/л	
	до виді-лення ПАР	після виді-лення ПАР	до виді-лення ПАР	після виді-лення ПАР	до виді-лення ПАР	після виді-лення ПАР
Гліцерин	139,9	262,3	немає	29,8	3,1	немає
Рафінована олія	770,3	245,0	348,0	134,0	12,6	2,1
Відпрацьо-вана після смаження картоплі олія	84,7	46,0	16,1	90,3	немає	5,7
Відпрацьо-вана після смаження м’яса олія	23,3	34,5	53,9	84,7	немає	3,2

Подальші дослідження показали, що за умов росту на різних субстратах *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 і *N. vaccinii* IMB B-7405 синтезують фітогормони (ауксини, цитокініни і абсцизову кислоту), причому їх якісний і кількісний склад залежав від природи джерела вуглецю у середовищі культивування, а також способу виділення. У табл. 2 наведено дані щодо утворення фітогормонів штамом *N. vaccinii* IMB B-7405.

Найвища концентрація фітогормонів (134−770 мкг/л) досягалась під час культивування *N. vaccinii* IMB B-7405 на рафінованій олії, а у разі заміни рафінованої олії на відпрацьовану їх кількість знижувалась (у деяких випадках на порядок). Найбільшу кількість ауксинів (122,04 мкг/л) і цитокінінів (363,93 мкг/л) штам *A. calcoaceticus* IMB B-7241 синтезував у процесі культивування на гліцерині. Зазначимо, що у разі заміни рафінованої соняшникової олії на відпрацьовану загальна кількість синтезованих фітогормонів практично не змінювалася (114,87 і 126,85 мкг/л відповідно).

Концентрація утворюваних *R. erythropolis* IMB Ac-5017 ауксинів була дещо нижчою порівняно з синтезованою двома іншими досліджуваними продуцентами ПАР. Зазначимо, що на відміну від *N. vaccinii* IMB B-7405 та *A. calcoaceticus* IMB B-7241, штам IMB Ac-5017 практично не синтезував цитокініни.

Висновки. Одержані нами результати засвідчують можливість використання олієвмісних промислових відходів для одночасного синтезу як поверхнево-активних речовин, так і фітогормонів і є основою для реалізації безвідходної технології, що дає змогу отримати у одному процесі мікробні препарати з різноманітними біологічними властивостями.

Список літератури

1. *Kalyani R. Bishwambhar M., Suneetha V.* Recent potential usage of surfactant from microbial origin in pharmaceutical and biomedical arena: a perspective // Int. Res. J. Pharm. – 2011. – Vol. 2, № 8. – P. 11–15.

2. *Mandal S.M., Barbosa A.E., Franco O.L.* Lipopeptides in microbial infection control: scope and reality for industry // Biotechnol. Adv. – 2013. – Vol. 31, № 2. – P. 338−345. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.01.004.

3. *Campos J.M., Stamford T.L., Sarubbo L.A., de Luna J.M., Rufino R.D., Banat I.M.* Microbial biosurfactants as additives for food industries // Biotechnol. Prog. – 2013. – Vol. 29, № 5. – P. 1097−1108. doi: 10.1002/btpr.1796.

4. *Sachdev D.P., Cameotra S.S.* Biosurfactants in agriculture // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2013. – Vol. 97, № 3. – P. 1005−1116. doi: 10.1007/s00253-012-4641-8.

5. *Meena K.R., Kanwar S.S.* Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics // Biomed. Res. Int. − 2015. − doi: 10.1155/2015/473050.

6. *Gong A.D., Li H.P., Yuan Q.S., Song X.S., Yao W., He W.J., Zhang J.B., Liao Y.C.* Antagonistic mechanism of iturin A and plipastatin A from *Bacillus amyloliquefaciens* S76-3 from wheat spikes against Fusarium graminearum // PLoS One. – 2015. − doi: 10.1371/journal.pone.0116871.

7. *Гвоздяк Р.И., Пасичник Л.А., Яковлева Л.М., Мороз С.М., Литвинчук О.О., Житкевич Н.В., Ходос С.Ф., Буценко Л.М., Данкевич Л.П., Гриник И.В., Патыка В.Ф.* Фипатогенные бактерии. Бактериальные заболевания растений. К.: ООО «НВП «Интерсервис», 2011. − 444 с.

8. *Пирог Т.П., Конон А.Д., Софілканич А.П., Скочко А.Б.* Антимікробна дія поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 та *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 // Мікробіол. журнал. – 2011. – Т. 73, № 3. − С. 14−20.

9. *Пирог Т.П., Берегова Х.А., Савенко І.В. Шевчук Т.А, Іутинська Г.О.* Антимікробні властивості поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Мікробіол. журнал. – 2015. − Т. 77, № 6. − С. 2−10.

АНАЛІЗ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ НОСІЇВ ГЕНА *GPC-B1* ВІД *TRITICUM TURGIDUM* SSP. *DICOCCOIDES*

Світлана Похилько, Богдан Моргун

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАНУ, м. Київ, Україна

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна

Антон Степаненко

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАНУ, м. Київ, Україна

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ, Україна

Олексій Дуган

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», м.Київ, Україна

Abstract Genetically determined electrophoretic variants of proteins as markers of structural genes encoding polymorphism are used in plant breeding to address many issues in recent decades. The gliadin encoding and glutenin encoding loci in hybrid families, the carriers of gene *Gpc-B1 Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* were studied in our experiment.

Keywords: winter wheat, protein, glutenin, gliadin, biofortification.

Вступ. Відомі три основні генетичні системи, контролюючі хлібопекарську якість м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. Це гени *Glu*, які визначають компонентний склад високомолекулярних і низькомолекулярних запасних білків глютенінів; гени *Gli*, що кодують спирторозчинні білки гліадини і локус *Ha*, що детермінує консистенцію ендосперму [1].

На даний час відомі 7 основні гліадинкодуючі локуси *(Gli-A1, Gli-B1, Gli-D1, Gli-A2, Gli-B2, Gli-D2 і Gli-3 (Gli-A3)),* а також 4 додаткові локуси *(Gli-A5,*

Gli-B5, Gli-6 (Gli-A6), Gli-7 (Gli-D7)), які тісно зчеплені з основними [2]. Описано 4 локуси, що кодують низькомолекулярні субодиниці глютенінів (*Glu-B2, Glu-A3, Glu-B3 і Glu-D3*) і 3 локуси високомолекулярних глютенінів (*Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1*) [3].

Серед сортів озимої м'якої пшениці, внесених до Державного реєстру України, переважає сильна і цінна пшениця, на частку кожної з них припадає близько третини сортів, п'яту частину складають сорти-філери і найменша кількість сортів віднесена до групи кормових пшениць. Для групи сортів сильних пшениць переважно характерний алель *Gli-1A(4)* 68 % і а для сортів з низькою хлібопекарською якістю (сорти-філери і кормові пшениці) – алелі *Gli -1A(2), Gli-1A(3) і Gli -1A(9).*

По локусу *Gli-1B* практично всі сорти сильних пшениць мають тільки один алель – *Gli-1B(1).* З погіршенням якості сортів спостерігається різке зниження частоти розповсюдженості цього алеля на противагу домінуванню алелю *Gli-1B(3).* У високоякісних пшениць поширені алелі *Gli-1D(4), Gli-1D(5), Gli-1D(7), Gli-1D(10),* які зустрічаються у 77,8 % сортів сильних пшениць, з вираженим домінуванням алелю *Gli-1D(4)* (44,4%) [4].

Сильний вплив на якість борошна пшениці мають алелі локусу *Glu-D1*, за ним слідують алелі локусів *Glu-B1* і *Glu-A1* [5]. Алельні варіанти високомолекулярних глютенінів *Glu-1A(1), Glu-1A(2*), Glu-1B(7+8), Glu-1B(77+8), Glu-1D(5+10)* визначають високі показники якості зерна та хлібопекарських властивостей пшениці [6].

Таким чином, необхідною умовою створення сильної хлібопекарської пшениці є присутність в генотипі сорту таких алелів гліадинкодуючих та глютенінкодуючих локусів як *Gli-1D(4), Gli-1B(1), Gli-1D(4)* та *Glu-1A(2*), Glu-1B(77+8), Glu-1D(5+10).* Тому контроль білкових алелів, в нашому дослідженні це один із важливих етапів відбору гібридних сімей.

Матеріали і методи дослідження. Матеріалом для дослідження було насіння гібридних сімей F_4 покоління отриманні від схрещування сорту Куяльник та сорту Langdon з заміщеною 6В хромосомою [7].

Методика електрофорезу глютенінів в ПААГ

Підготовка зразків включала подрібнення зернівок пшениці, екстракцію білків буфером протягом 24 годин. Збираємо систему для заливання гелю. Беремо два скла, спейсери і гребінку з необхідною кількістю лунок для зразків. Між двома пластинками, затискаємо спейсери і встановлюємо систему у вертикальне положення. Готуємо перший розділяючий гель. На 45 мл гелю необхідно 18,75 мл – 30 % АА, 4,65 мл – 1% БАА, 11,25 мл – Tris (pH 8,7), 9,75 мл – H_2O, 0,45 мл – SDS, 200 мкл ПСА і 20 мкл ТЕМЕД. Приготовлений гель заливаємо в систему і чекаємо поки він заполімеризується. Для розділяючого гелю заливаємо систему на 70 % і залишаємо місце під концентруючого гелю. Готуємо концентруючий гель так: на 15 мл необхідно 1,87 мл – Tris (pH 6,8), 1,95 мл – 1% БАА, 2,5 мл – АА 30 %, 8,4 мл – H_2O, 0,15 мл – SDS 10 %, 150 мкл – ПСА і 15 мкл ТЕМЕД. Приготовленим гелем заповнюємо систему на 100 %, вставляємо гребінку і чекаємо до повної полімеризації.

Після повної полімеризації системи, виймаємо гребінку. Зразки, перед нанесенням кип’ятять 3 хв. В лунки вносимо по 11-14 мкл зразку. Простір над лунками заповнюємо електрофорезним буфером. Встановлюємо систему в камеру і наповнюємо верхню і нижню камери електрофорезним буфером. Вмикаємо блок живлення, встановлюємо напругу спочатку 20 V, поки зразки не зайдуть в слоти, потім піднімаємо напругу до 30 V, поки не вийдуть зразки з концентруючого гелю і збільшуємо до 60 V до кінця проходження розділяючого гелю.

Після закінчення реакції систему розбирають, гель переносять у ванночку для фарбування і залишають на 12 годин. Після фарбування гель переносять у ванночку з дистильованою водою і відмивають 12 годин.

Методика електрофорезу гліадинів в ПААГ

Підготовка зразків. Розмелюємо одну зернівку пшениці та переносимо її в пробірку. В пробірку додаємо 400 мкл 70 % етанолу і залишаємо на 12 годин, для витяжки білків. Відбираємо 80-100 мкл надосадової рідини та ставимо у сухожарну шафу на 60 °С, для випаровування спирту. До висушеної проби додаємо 80-100 мкл 5,5 М сечовини. Збираємо систему для заливання гелю аналогічно попередньо описаній методиці. Готуємо перший розділяючий гель: на 25 мл необхідно 5,5 мл – MMS, 16,9 мл – 4,44 М сечовина, 1,5 мл – оцтова кислота, 1,125 мл – H_2O, 100 мкл ПСА і 10 мкл ТЕМЕД. Приготовлений гель обережно заливаємо в систему на 70%, залишаючи місце для концентруючого гелю і даємо полімеризуватися. Готуємо концентруючий гель: на 15 мл необхідно 2,125 мл – SGB, 1,963 мл – MSS, 8,4 мл – 4,44 М сечовини, 150 мкл – ПСА і 15 мкл ТЕМЕД. Приготовленим гелем заповнюємо систему на 100 %, вставляємо гребінку і чекаємо до повної полімеризації.

Після повної полімеризації системи, виймаємо гребінку. В лунки вносимо по 20-25 мкл зразку. Простір над лунками заливаємо електрофорезним буфером. Встановлюємо систему в камеру і наповнюємо верхню і нижню камери електрофорезним буфером. Вмикаємо блок живлення, вставлюємо напругу спочатку 150 Вт на 30 хв, потім піднімаємо напругу до 450 Вт до кінця проходження розділяючого гелю. Роблять два прогони фарбнику.

Після закінчення електрофорезу систему розбирають, гель переносять у ванночку для фарбування (150 мл етилового спирту, 0,02 г кумасі BlueR, 620мл дистильованої води, 50 мл оцтової кислоти, 100 мл 3-хлороцтової кислоти) і залишають на 12 годин. Після фарбування гель переносять у ванночку з дистильованою водою і відмивають 12 годин.

Результати і обговорення. Як відомо з літературних джерел, ген *Gpc (grain protein content)* відповідає за перенесення поживних речовин зі старіючого листя у зернівку, зумовлюючи, таким чином, підвищений вміст у зерні пшениці білка й таких важливих мікроелементів як *Zn, Mn* та *Fe* [8]. Тому

одним із етапів роботи було розробка системи визначення якісного складу запасних білків пшениці методом електрофорезу у поліакриламідному гелі. Дослідними зразками було насіння гібридних сімей F_4 покоління носіїв *Gpc-B1* від *T. turgidum* ssp. *dicoccoides*. Батьківськими лініями були сорт Куяльник і Langdon із заміщеною 6В хромосомою. Для сорту Куяльник по глютенінам характерні такі білкові субодиниці *Glu-A1b(2*), Glu-B1al(77+8), Glu-D1d(5+10)*, а для сорту Langdon – *Glu-A1a(1), Glu-B1d(6+8).* Результати розділення фракції глютенінів представлено на рис. 1.

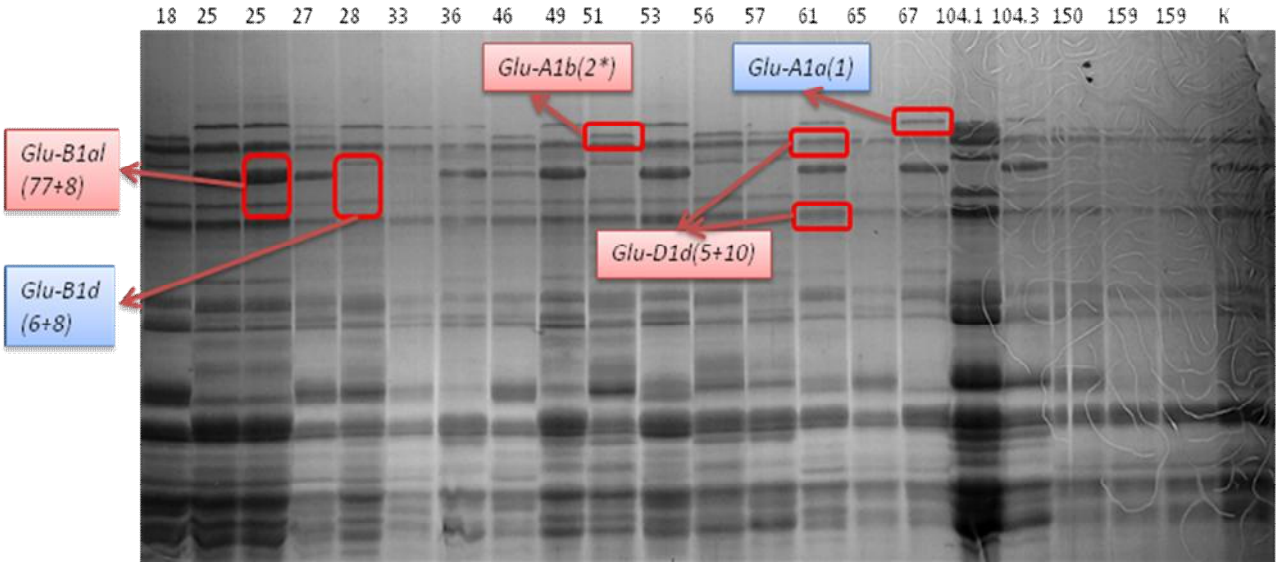


Рис. 1. Аналіз фракції глютенінів.

Доріжка 18-159 – дослідні зразки, К – сорт Куяльник, вихідна лінія.

При відборі нащадків необхідно обирати форми, які несуть білкові субодиниці від сорту районованого Куяльник, так як даний сорт має одні із найсильніших алелей *Glu-D1d(5+10), Glu-B1al(77+8), Glu-A1b(2*),* які позитивно впливають на якість борошна. У той же час сорт Langdon містить алель *Glu-B1d(6+8),* який негативно впливає і знижує якість хлібопекарського борошна.

Фракції гліадинів так само досліджувалися у гібридних сім'ях F_4 покоління носіїв *Gpc-B1* від *T. turgidum* ssp. *dicoccoides*, нащадків того ж самого

схрещування. Для сорту Куяльник по гліадинам характерні такі білкові субодиниці *Gli-1A(10), Gli-1B(1), Gli-1D(4)*, а для сорту Langdon *Gli-1A(2), Gli-1B(2)*. Результати розділення фракції глідадинів представлено на рис. 2.

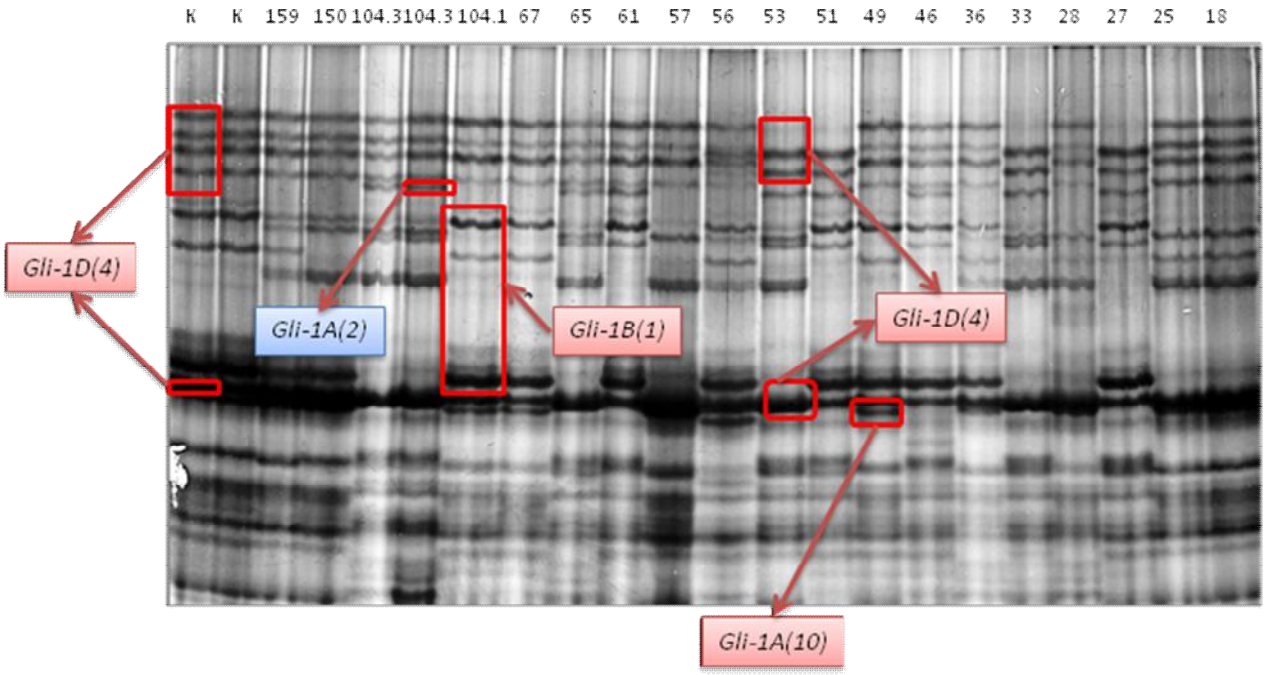


Рис. 2. Аналіз фракції гліадинів.

Доріжки 159-18 – дослідні зразки, К – сорт Куяльник, вихідна лінія

Сорти пшениці у яких присутній *Gli-1B(1)* мають якість зерна на високому рівні. Тоді як присутність алелю *Gli-1A(2)* свідчить про те, що це кормовий сорт пшениці. В локусі *Gli-1D* у високоякісних сортів найчастіше присутній алель *Gli-1D(4)*.

Висновки. Розроблені системи аналізу білкових фракцій в поліакриламідному гелі, дали нам можливість виявити бажані субодиниці запасних білкові сортів Куяльник та Langdon. Порівнюючи гібридні сім'ї між собою та батьківськими сортами було обрано найбільш перспективні для подальшого аналізу та селекційного відбору.

Список літератури

1. Попереля Ф.О. Три основні генетичні системи якості зерна озимої м'якої пшениці // Реалізація потенційних можливостей сортів та гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України. Зб. наук. праць СГІ. Одеса, 1996. С. 117–132.

2. McIntosh R.A., Yamazaki Y., Devos K.M., Dubkowsky J., Rogers J., Appels R. MacGene 2008. Catalogue of Gene Symbols for Wheat // http://www.grs.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes.

3. Payne P.I., Holt L.M., Jacson E.A., Law C.N. Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding // Phil. Trans. R. Soc. Lond. 1984. V. 304. P. 359–371.

4. Тищенко В.Н. Гліадини зерна як маркери господарчих корисних ознак у озимої пшениці Точка доступу: http://www.agromage.com/stat_id.php?id=229

5. Boisson, M. Partial sequences of nitrogen metabolism genes in hexaploid wheat / [M. Boisson, K. Mondon, V. Torney, N. Nicot et al.] // Theor. Appl. Genet., 2005. – 110, V. 5. – P. 932– 940.

6. Панченко І.А. Інформаційна цінність та успадкування алельних варіантів блоків високомолекулярних глютенінів в селекції озимої пшениці на якість зерна / [І.А. Панченко, З.В. Усова, Н.М. Притула, В.В. Лучной та ін.] // Селекція і насінництво. – Х., 2007. – Вип. 94. – С. 115–128.

7. Дослідження генотипів пшениці м'якої з перенесеним геном Gpc-B1 від *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* / [Похилько С.Ю. Трояновська А.В. Степаненко А.І. та ін.] – К.: Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім.. М.І. Вавилова, 2016. – Т.18. – 132-135 с.

8. Рыбалка О.І. Селекционное улучшение сортов // Агробизнес сегодня (№20). – 2012.

ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА «БИОГРАН» НА РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ *CUCUMIS SATIVUS*

Екатерина Рудакова, Андрей Анацкий

Днепровский государственный технический университет, г. Каменское, Украина

Аннотация. *Исследованы ростовые и морфометрические показатели Cucumis sativus при обработке семян сортов «Конкурент» и «Нежинский местный» «Биограном». Отмечена стимуляция роста корней и побегов огурца, причем сорт «Конкурент» более чувствителен к воздействию препарата.*

Ключевые слова: защита растений, стимуляция роста, фиксация азота.

Введение. В условиях интенсивного роста потребления сельскохозяйственной продукции и ухудшающегося состояния окружающей среды актуальна проблема разработки и внедрения экологически безопасных приемов растениеводства. Это предполагает сокращение или полный отказ от синтетических удобрений, химических средств защиты растений при максимальном использовании биологических факторов повышения плодородия почв, которые не оказывают негативного воздействия на состояние природной среды, но улучшают условия формирования урожая [1]. В частности, бактериальные удобрения увеличивают содержание в почве биологически доступных форм макро- и микроэлементов, стимулируют рост растений, выполняют фитосанитарные функции, повышая устойчивость растений к почвенным инфекциям. Это приводит к повышению урожайности сельскохозяйственных культур при уменьшении доз внесения в почву минеральных удобрений. Перспективным является разработка и использование комплексных биопрепаратов, содержащих консорциум микроорганизмов, не только способствующих азотфиксации, но и снабжающих растение биологически-активными веществами (аминокислоты, витамины) [2]. Для

выбора биопрепарата, определения эффективности его действия и целесообразности применения необходимо выполнение предварительных лабораторных и полевых исследований.

Цель данной работы – определить влияние микробного препарата «Биогран» на ростовые и морфометрические показатели *Cucumis sativus* на начальной стадии развития растения.

Материалы и методы. Исследования проводили в лабораторных условиях с семенным материалом растения огурец (*Cucumis sativus***)** сортов «Конкурент», «Нежинский местный» и биопрепаратом «Биогран».

«Конкурент» - сорт селекции Украинского НИИ овощеводства и бахчеводства. Сорт скороспелый, засолочный, пригоден для выращивания в летних посевах, ценится за устойчивость к мучнистой росе, слабую поражаемость бактериальной пятнистостью. Районирован в ряде областей Украины и странах СНГ.

«Нежинский местный» - сорт урожаен, требователен к влаге, устойчив к грибным заболеваниям. Ценится за высокие вкусовые качества, один из лучших сортов для засолки, широко выращиваемый во многих странах СНГ.

«Биогран» - биопрепарат широкого спектра действия, предназначенный для улучшения питания овощных, зерновых, технических культур, снижения поражаемости растений фитопатогенными микроорганизмами. Содержит штаммы бактерий *Azotobacter chroococcum* і *Azotobacter vinelandii M-70/2*, фиксирующие молекулярный азот атмосферы и стимулирующие рост растений. В состав препарата также входит биогумус, полученный вермикомпостированием перегноя крупного рогатого скота с помощью красного калифорнийского червя, обогащенный гуминовыми и аминокислотами, микро- и макроэлементами. Препарат можно наносить на семена, проливать в лунки при высадке рассады в грунт, смачивать корни перед высадкой рассады, опрыскивать листья растений при вегетации. «Биогран» разработан украинскими учеными (Институт сельскохозяйственной

микробиологии и агропромышленного производства НААН Украины) и выпускается в двух формах – жидкой и сухой гранулированной.

Исследования проводили на водной среде с оптимизированным минеральным составом [3]. Семена сортов «Конкурент» и «Нежинский местный» в количестве по 50 шт. помещали в стеклянные сосуды с водно-солевым раствором (10 семян/сосуд) и вводили 1% жидкого биопрепарата «Биогран», приготовленного в четырех разведениях – 1:1000, 1:500, 1:300, 1:100. Контролем служил водно-солевой раствор без добавления препарата. Семена инкубировали при температуре 23°С. Энергию прорастания семян определяли через 72 часа инкубации, всхожесть – через 7 суток. Ежедневно в течение эксперимента подсчитывали количество нормально проросших, загнивших и некондиционных семян. При этом нормально проросшими считали семена, имеющие зародышевый корешок с длиной больше размера семени и сформированный росток. Показатели всхожести и энергии прорастания семян рассчитывали в процентах как среднее арифметическое результатов наблюдений в каждом из сосудов для проращивания.

При исследовании морфометрических показателей длину корня и побега измеряли микрометром для каждого проросшего семени, затем определяли среднее арифметическое показателя в каждой группе.

Статистическую обработку результатов проводили по общепринятым методикам [2].

Результаты и обсуждение. Известно, что фитостимулирующие микроорганизмы обеспечивают более высокие процент и скорость прорастания семян растений [4]. В то же время, эффективность действия любого биопрепарата зависит от разведения, в котором он используется для обработки: в зависимости от концентрации микроорганизмов в суспензии можно наблюдать стимулирование, ингибирование ростовых процессов растения или отсутствие выраженного действия (табл.1, 2), чем будет определяться экономическая целесообразность применения препарата.

Таблица 1. Влияние «Биограна» на ростовые показатели семян Cucumis sativus

Сорт	Показатель	Разведения препарата				
		контроль	1:1000	1:500	1:300	1:100
Конкурент	энергия прорастания, %	100	100	99	99	100
	всхожесть, %	95	100	97	98	98
Нежинский местный	энергия прорастания, %	60	67	72	75	75
	всхожесть, %	55	58	63	65	65

Из приведенных данных следует (табл.1), что в исследуемом диапазоне разведений биопрепарат не оказывает существенного влияния на энергию прорастания и всхожесть семян огурца обоих сортов. «Конкурент» характеризуется высокими значениями этих показателей даже в контроле, обработка семян «Нежинский местный» позволила увеличить эти характеристики только на 15 % и 10 % соответственно.

Таблица 2. Влияние «Биограна» на морфометрические показатели семян Cucumis sativus

Сорт	Длина корней/побегов (мм) при разведении препарата				
	контроль	1:1000	1:500	1:300	1:100
Конкурент	4,5/6,2	5,2/7,0	5,7/7,7	6,4/8,5	6,8/9,2
Нежинский местный	4,2/5,7	4,5/6,3	4,8/6,8	5,2/7,2	5,5/7,6

Определение морфометрических показателей проростков огурца показало (табл. 2) стимуляцию роста корней и побегов при введении в среду «Биограна». Для обоих сортов характерна большая чувствительность побегов к препарату, чем корней, максимальный эффект наблюдается при использовании разведения 1:100, которое позволяет увеличить морфометрические показатели на 30-33% («Нежинский местный») и 50-58 % («Конкурент») по сравнению с контролем.

Полученные экспериментальные данные указывают, что обработка биопрепаратом *Cucumis sativus* целесообразна на более поздних стадиях онтогенеза, в процессе формирования и роста корневой системы, развития побегов.

В дополнительно проведенных исследованиях по влиянию товарной формы «Биограна» на приведенные выше характеристики семян не установлено достоверных отличий в эффективности действия препарата в жидкой и сухой гранулированной формах, поэтому к практическому применению рекомендован «Биогран» в жидкой форме, что упрощает способ обработки семян (отсутствует необходимость в предварительном растворении сухого порошка в воде).

Выводы. Биопрепарат «Биогран» не оказывает влияния на энергию прорастания и всхожесть семян огурца. Сорт «Конкурент» характеризуется более высокими значениями этих показателей по сравнению с «Нежинским местным», которые не изменяются при введении «Биограна» в различных разведениях. Обработка семян огурца «Биограном» стимулирует рост корневой системы и побегов, длина которых возрастает на 30-60% при разведении 1:100.

Список литературы

1. *Завалин А.А.* Биопрепараты, удобрения и урожай. – М.: ВНИИА, 2005. – 302 с.
2. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990.– 352 с.
3. *Моргун В.В., Коць С.Я., Кириченко Е.В.* Ростостимулирующие ризобактерии и их практическое применение // Физиология и биохимия культурных растений. - 2009. – т. 41, № 3. - С. 187 – 207.
4. *Шапошников А.И., Белимов А.А., Кравченко Л.В., Виванко Д.М.* Взаимодействие ризосферных бактерий с растениями: механизмы образования и факторы эффективности ассоциативных симбиозов (обзор) // Сельскохозяйственная биология. - 2011. - № 3. - С. 16 – 22.

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «ЕКОСТИМУ» НА ВМІСТ БІЛКУ І КЛЕЙКОВИНИ В ЗЕРНОВИХ

Ольга Тогачинська, Оксана Ничик, Оксана Салавор

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Ірина Паращенко

Інститут агроекології природокористування НААН, м. Київ, Україна

Анотація. Досліджено вплив регуляторів росту на біохімічні показники зернових культур. Встановлено ефективність їх застосування на посівах озимої пшениці сорту Лада Одеська.

Ключові слова: регулятор росту «Екостим», якість, білок, озима пшениці.

Вступ. В останні роки з застосуванням найновітніших наукових досягнень були створені нові високоефективні регулятори росту, які здатні підвищувати якість сільськогосподарських культур. Результати досліджень показали, що регулятори росту за своїми хімічними властивостями підвищують стійкість рослин до несприятливих факторів середовища – високих і низьких температур, нестачі вологи, ураження хворобами і шкідниками. Що в подальшому сприятиме значній інтенсифікації сільськогосподарського виробництва.

Регулятори росту рослин – це природні або синтетичні сполуки, які використовують для обробки насіння або рослин з метою покращення якості зерна, збільшення врожайності, тобто це фактори керування ростом і розвитком рослин. Проте природні фітогормони (ауксини, гібереліни, цитокініни ,етилен, абсцизова кислота), не знайшли широкого застосування в сільськогосподарському виробництві. Це пов’язано з тим, що вони мають високу вартість виробництва. Масове використання регуляторів росту стало

можливим лише після створення препаратів на основі аналогів природних речовин.

Слід відмітити, що в Західній Європі широкого застосування на зернових культурах набуло використання регуляторів росту рослин ретардантного типу. Ними у Німеччині, Франції, Великій Британії обробляється відповідно 76; 55; 67 % посівів озимої пшениці [4].

Аналіз літературних джерел свідчить про те, що нині з'явилися препарати, норми внесення яких під основні культури становить десятки грамів чи міліграмів на тонну насіння або гектар посівів [2, 3].

Матеріали і методи дослідження. Метою роботи є вивчення впливу регулятора росту «Екостим» на якість пшениці озимої сорту Лада Одеська**.**

Об'єктом дослідження є особливості технології вирощування пшениці озимої сорту Лада Одеська на чорноземах Інституту агроекології і природокористування Інституту НААН.

Основними завданнями було визначення вливу стимулятора росту «Екоостим» на біохімічні показники пшениці сорту Лада Одеська.

Дослідні ділянки були розміщені на чорноземних грунтах. За даними агроекологічних аналізів ці грунти перед закладкою досліджень мали таку хімічну характеристику: вміст гумусу становив .– 1,23%, гідролізованого азоту за Конфільдом .– 103 мг/кг, рухомого фосфору .– 187 мг/кг, обмінного калію .– 160 мг/кг, pH (кл) .– 5,0, гідролітична кислотність .– 1,78. Обмінні основи Са .– 8,1 мг, Mg .– 1,0 мг/кг грунту.

Характеристика препарату «Екостим». Регулятори росту рослин - це сполуки, що впливають на ріст і розвиток рослин у дуже малих кількостях. Одним з них є новий препарат **"Екостим".**

«Екостим» це водно-спиртовий розчин аналогів природних фітогормонів (ауксинів, цітокінінів, гіббереліновв), амінокислот вуглеводів, вітамінів,жирних кислот, мікроелементів та інших біологічно-активних речовин, які отримують з

продуктів метаболізму грибів ендофітів . Токсичні та шкідливі речовини в цьому повністю відсутні.

Препарат має такі основні властивості: підвищує схожість і енергію проростання насіння і фотосинтез рослин, стимулює коренеутворення, ріст і розвиток рослин, підвищує імунітет до захворювання, збільшує вміст білків, цукрів і вітамінів, стимулює цвітіння рослин.

У досліді вивчали такі варіанти технологій, які наведені у таблиці 1.

Таблиця 1. Варіанти дослідження

Варіанти дослідження	Технологічний захід	Норма витрати
Контроль	Обприскування посівів водою	-//-
Варіант 1	Емістим	5 мл/га
Варіант 2	Ендофіт 1	5 мл/га
Варіант 3	Екостим	15 мл/кг
Варіант 4	Екостим	25 мг/га
Варіант 5	Екостим	50 мл/ га

До складу робіт входило проведення польових і лабораторних досліджень вивчення основних якісних показників рослинної продукції, залежно від застосування «Екостиму».

Застосовували рекомендовану для культури та зони технологію. Розмір облікової ділянки у дрібно ділянкових польових дослідах становив 20–25 м^2 при чотириразових повтореннях.

Обробку результатів аналітичних досліджень, встановлення взаємозв’язку між факторами проводили методами математичної статистики, достовірність і надійність яких підтверджувалася за допомогою дисперсійного, регресійного, кореляційного аналізів [1].

Результати і обговорення. Відмічено, що нові препарати істотно підвищують стійкість посівів пшениці до ураження основними хворобами, зокрема іржею, кореневими гнилями та іншими.

Застосування „Емістим" 10 мл/га (стандарт) на посівах пшениці збільшило урожай зерна на 4,5 ц/га (25,1%), вміст білку в ньому на 0,25 %.

Обробка посівів озимої пшениці стимулятором росту рослин „Екостим" дала приріст урожаю зерна 6,0-8,5 ц/га (35,0-45 %), вміст білку зростав на 0,50-1,8%, вміст клітковини на 2,5-4,5% (табл. 2).

Таблиця 2. *Вплив препарату «Екостиму» на вміст білку і клейковини.*

Варіанти	Вміст білку ,%	Вміст клейковини %
Контроль (водою)	9,0	20,4
Емістим 5 мл/га	10.0	20,4
Ендофіт 5 мл/га	10,80	22,4
Екостим 15 мл/га	11,10	25,6
Екостим 25 мл/га	11,60	22,4
Екостим 50 мл/га	12,10	24,8

З збільшенням дози препарату з 15 мл/га до 50 мл/га приріст урожаю і вміст білку зростали. Так від обприскування посівів пшениці дозою „Екостиму" 15 мл/га урожай становив 24,5 ц/га, від дози 25,0 мл/га - 26 ц/га, і від дози 50 мл/га він становив 27 ц/га, що відповідно на 6,0, 7,3 і 8,5 ц/га більше, ніж на контролі. Вміст білку зростав відповідно на 0,50, 1,0 і 1,40 %.

Мікроорганізми грунту також відіграють провідну роль у кругообігу основних біогенних елементів, синтезі біологічно активних сполук,трансформації гумусу. В проведених дослідженнях вивчили безпосередній вплив стимулятора (регулятора) росту рослин "Екостим" на розвиток мікроорганізмів у грунті можна виявити на ранніх стадіях розвитку рослин. У більш ранні терміни досліджень вплив препарату стає

опосередкованим через рослини і специфічний розвиток кореневої системи. „Екостим" позитивно впливає на властивості грунту. Адже він набуває здатності стимулювати проростання насіння злакової тест-культури, підвищує інтегральний показник біологічної активності ризисфери грунту сої – інтенсивність дихання. У грунті кореневої зони пшениці вдвічі підвищується вміст загальної мікробної маси. Проведені дослідження показали, що вміст мікроелементів у продукції культур, які досліджувались, був рівним контролю або дещо вищим. Вміст важких металів був дещо нижчим, ніж на контролі, або рівним контролю і був набагато нижчим від гранично допустимого рівня.

Висновки. Обробка посівів пшениці озимої по вегетації стимулятором росту рослин "Екостим" дала приріст урожаю зерна на 6,0 – 8,3 ц/га. Ззбільшенням дози препарату з 15 до 50 мл/га приріст урожаю зростав. Оптимальною дозою була 25 мл/га.

Від застосування препарату вміст білку зростав на 0,90–1,40 %, вихід білку на 0,74–1,12 ц/га, вміст клейковини на 2,0–5,2 і вихід клейковини на 2,34–2,70 ц/га.

Для оптимізації параметрів їх застосування доцільно продовжити дослідження також і на інших сількогосподарських культурах.

Список літератури

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов – М.: Колос, 1973. – 335с.

2. Лихочвор В. Застосування регуляторів росту рослин на посівах зернових культур / В. Лихочвор. Пропозиція – 2003. - №4. – С.56 – 57.

3. Церлинг В.В.. Диагностика питания сельскохозяйственных культур / В.В Церлинг.: справочник. – М.: ВО «Агропромиздат», 1990. – 235 с.

4. Lohnun terhehmen Lanol – und Forstwirt – 1995.- 50, №4.- P.38-39.

БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ СПОСІБ СТИМУЛЯЦІЇ ВІДТВОРЮВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ КОРІВ ПРЕПАРАТОМ СТИМУЛІН-ВЕТ

Віктор Шеремета, Микола Грунтковський

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ

Анотація. Встановлено, що використання препарату Стимулін-Вет є ефективним, воно дає змогу підвищити рівень овуляції фолікулів на яєчниках 26,7 % та зменшити кількість корів з ановуляторним циклом. Також препарат дозволяє підвищувати рівень заплідненості у корів як під час повторного осіменіння, так і у тих, що перший раз прийшли в статеву охоту після отелення.

Ключові слова: самка, ановуляторний цикл, овуляція, статева охота, препарат, корова, осіменіння.

Вступ. Людству відомий лише один шлях отримання біомаси як джерела продовольчої сировини – це використання можливості живої матерії до розмноження. Тому рішенням продовольчої проблеми є розробка ефективних технологій відтворення високопродуктивних представників тваринного світу [4].

Реалізація відтворення можлива лише за нормального перебігу усіх його ланок. При їх невідповідності фізіологічним потребам виникають різні розлади функцій і навіть неплідність. За даними американських дослідників, низька відтворювальна здатність корів молочних порід посідає друге місце у переліку причин їх вибракування [1,6,7].

За промислової технології виробництва молока у 6-8 % корів спостерігались тяжкі отелення, у 15–20 % – затримання посліду, у 60–70 % – ендометрити. Результативність осіменіння становить 40–50 %, тривалість сервіс-періоду – 140–150 днів. Усі ці порушення не дають змоги отримати 100 телят від 100 корів. Оскільки кількість телят, які отримані від самиць в основному залежить від тривалості сервіс-періоду, то з подовженням його вихід приплоду в розрахунку на 100 корів за рік знижується. Отже, осіменіння корів у

перші два місяці після отелення – необхідна умова підвищення темпів відтворення поголів'я і підвищення економічної ефективності галузі [3].

Тому, для цілеспрямованої регуляції відтворної функції у корів використовують біологічно активні препарати. В попередніх дослідженнях було встановлено, що після дворазового введення «Стимулін-Вет» через 12 та 24 години після першого осіменіння запліднюваність збільшилась на 22,9 % [8]. Оскільки конкуренція між лактаційною та статевою домінантою має вплив на функціонування статевої системи корів, важливим є визначити ефективність дії препарату за різного рівня молочної продуктивності. Тому було прийнято рішення продовжити дослідження в різних господарствах.

Матеріали і методи досліджень. Дослід проводили у ТОВ АФ «Крюківщина», Києво-Святошинського району, Київської області на коровах української чорно-рябої молочної породи. Для дослідження були відібрані корови української чорно-рябої молочної породи з живою масою 520-550 кг та з надоєм за найвищу лактацію 6700-7500 кг, що заходились в однакових умовах годівлі і утримання.

Науково-виробничий експеримент був проведений на основі груп-аналогів. Із репрезентативної вибірки корів після першого осіменіння було сформовано дві групи корів дослідну та контрольну. В першу статеву охоту після першого осіменіння через 12 та 24 години дослідним коровам вводили під шкіру в області лопатки дві ін'єкції препарату нейротропно-матаболічної дії «Стимулін-Вет» в дозі 20 мл. Котрольним коровам – 20 мл фізіологічного розчину. Схема досліду представлена в таблиці 1.

Осіменяли корів один раз ректо-цервікальним способом. Через три місяця провели ректальні дослідження тварин на визначення тільності. З отриманих результатів за формулою розрахували відсоток самиць великої рогатої худоби з ембріональною смертністю та ановуляторним циклом [5].

Таблиця 1. Схема дослідження стимуляції запліднености корів препаратом «Стимулін-Вет»

Групи	Кількість тварин, гол.	Місце введення	Ведення препарату	
			після першого осіменіння через	
			12 годин	24 годин
Контрольна	45	під шкіру	20мл фізіологічний розчин	20мл фізіологічний розчин
Дослідна	45	під шкіру	20мл «Стимулін- Вет»	20мл «Стимулін-Вет»

Результати і обговорення. Введення препарату Стимулін-Вет стимулювало овуляцію у 80,0 % тварин, що вірогідно більше на 26,7 %, ніж у контролі. Різниця щодо ембріональної смертності була незначною і визначалася в межах похибки (табл. 2).

Таблиця 2. Ефективність стимуляції овуляції фолікулів у яєчниках самиць препаратом Стимулін-Вет

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Всього корів, гол.	45	45
Корови, у яких відбулася овуляція, %	53,3±7,44	80,0±5,96*
Корови з випадками ембріональної смертності, %	17,8±5,70	22,2±6,20
Корови з ановуляторним циклом, %	46,7±7,44	20,0±5,96*

Примітка. *$p < 0,01$ – до контролю

Результати ректальних досліджень виявили, що в дослідній та контрольній групах 24 та 14 корів, відповідно, стали тільними. Це дало змогу визначити рівень заплідненості, який в дослідній групі становив 53,3 % та вірогідно перевищував показники контрольної групи на 22,2 % (табл. 3).

Отже, отримані результати свідчать, що введення нейротропно-метаболічного препарату негормонального походження Стимулін-Вет стимулює репродуктивну систему тварин, завдяки чому збільшується

кількість корів з овуляцією фолікулів у яєчнику, що в свою чергу підвищує заплідненість.

Таблиця 3. Заплідненість піддослідних тварин

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Всього корів, гол.	45	45
Тільні, гол.	14	24
Нетільні, гол.	31	21
Заплідненість, %	31,1±6,9	53,3±7,44*

Примітка. *$p < 0,05$ – до контролю

Досить ефективним виявилося введення препарату тваринам, яких після отелення перший раз штучно осіменяли. У результаті введення препарату кількість корів з овуляцією фолікулів у яєчнику збільшилося, а з ановуляторним циклом – зменшилося на 25,0 % порівняно з контролем. Кількість тварин у яких реєструвалася ембріональна смертність, в піддослідних групах була однаковою (табл. 4).

Таблиця 4. Кількість піддослідних корів з фізіологічним та ановуляторним статевим циклом після першого осіменіння

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Всього корів, гол.	20	20
Тільні, гол.	7	12
Нетільні, гол.	13	8
Корови, у яких відбулася овуляція, %	55,0±11,12	80,0±8,94
Корови з ановуляторним циклом, %	45,0±11,12	20,0±8,94
Корови з випадками ембріональної смертності, %	20,0±8,94	20,0±8,94
Заплідненість, %	35,0±10,67	60,0±10,95

Заплідненість тварин дослідної групи після першого осіменіння за рахунок уведення біологічно активного препарату Стимулін-Вет була досить

високою та становила 60,0 %, що перевищувало показники у самиць контрольної групи на 25,0 %.

Отже, збільшення за рахунок введення біологічно активного препарату нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет кількості корів з овуляцією фолікулів у яєчниках сприяє підвищенню заплідненості після першого осіменіння.

Висновки. Використання препарату Стимулін-Вет є ефективним, воно дає змогу підвищити рівень овуляції фолікулів та зменшити кількість корів з ановуляторним циклом. Також препарат дозволяє підвищувати рівень заплідненості у корів як під час повторного осіменіння, так і у тих, що перший раз прийшли в статеву охоту після отелення.

Список літератури

1. Біотехнологічні і молекулярно-генетичні основи відтворення тварин / [Яблонський В. А., Хомин С. П., Завірюха В. І. та ін.]; під ред. В. А. Яблонського, О. І. Сергієнка, Р. С. Стойка. – Львів: Афіша, 2009. – 217 с.

2. Ильинский Е. В. Физиология размножения и предупреждение бесплодия крупного рогатого скота / Ильинский Е. В. – Краснодар: Книжное издательство, 1972. – 224 с.

3. Митяшова О. Воспроизводство в высокопродуктивных стадах / О. Митяшова, А. Оборин, А. Чомаев // Животноводство России. – 2008. – № 9. – С. 45–46.

4. Осташко Ф. И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота / Осташко Ф. И. – К.: Аграрна наука, 1995. – 185 с.

5. Пат.83473 Україна, ПМК. A61D 19/04/ Спосіб визначення відсотка самиць великої рогатої худоби з ембріональною смертністю Шеремета В.І., Чумаченко І.П., Грунтковський М.С. № u201304121; Заявл. 02.04.2013. Опубл. 10.09.2013 Бюл. № 17.

6. Петкевич Н. Методы повышения воспроизводительной способности животных / Н. Петкевич // Молочное и мясное скотоводство. – 2005. – № 4. – С. 11–12.

7. Підвищення багатоплідності овець на основі біологічно активних речовин / М. М. Шаран, М. Д. Пасіцький, З. С. Топурко [та ін.] // Вісник аграрної науки. – 2007. – № 6. – С. 45–48.

8. Шеремета В.І., Грунтковський М.С. Стимуляція біологічно активним препаратом овуляції фолікулів на яєчниках корів // Таврійський науковий вісник. - 2012. - №78 т.2 ч.2. - с. 224-228.

СЕКЦІЯ 5. ФАРМАЦЕВТИЧНА ТА МЕДИЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ

ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ ШЛЯХОМ ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ АЛЬФА АМІЛАЗИ В КРОВІ

Олена Герасимець, Вікторія Красінько

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Тамара Кучмеровська

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ, Україна

Abstract. The article investigates the possibility of using alpha amylase as a marker of pathological changes of pancreatic parenchyma. Based on analysis of published data and the studies it was found that the aforementioned enzyme is conclusive diagnostic indicator of the functional state of the pancreas and increase the activity of this enzyme is the criterion of pancreatitis.

Keywords: acute pancreatitis, diagnostic markers, α-amylase.

Актуальність теми. В останні роки спостерігається тенденція збільшення кількості хворих із гострими запальними захворюваннями паренхіми підшлункової залози (ПЗ) [1,2]. За хронічного панкреатиту у підшлунковій залозі, розвиваються запальні процеси, які досить часто супроводжуються дегенерацією тканини залози, що може призводити до склерозу паренхіми органу та втрати його ендо- та екзокринної функції [3].

На даний момент частіше за все з діагностичною метою визначають рівні панкреатичних ферментів у сироватці крові хворих на гострий панкреатит (ГП), що надходять туди за умов процесів протеолізу та аутолізу тканини ПЗ, оскільки ці методики мають достатньо високу чутливість та специфічність. Одним із найбільш важливих маркерів функціонального стану підшлункової залози є α-амілаза плазми крові людини чи тварин. Підвищення активності саме

цього ензиму є критерієм розвитку хронічного панкреатиту, а також цукрового діабету [4].

Мета роботи. Метою даної роботи є визначення активності α-амілази у плазмі крові щурів за експериментального гострого панкреатиту.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження є статевозрілі самці безпородних білих щурів, масою тіла 200–300 г. Експерименти проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених на 1-му Національному конгресі з біоетики (Київ, 2000). Тварин утримували у стандартних умовах віварію при вільному доступі до їжі та води. Піддослідних тварин було розділено на дві групи: контрольна та експериментальна. Щурам контрольної групи одноразово інтраперитонеально вводили по 0,5 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. ГП у тварин моделювали шляхом одноразового інтраперитонеального введення натщесерце *L*-аргініну гідрохлориду у дозі 4 г/кг, "Sigma", США. Тварин використовували для досліджень відповідно через 1, 3 доби після моделювання патології.

Визначення активності α-амілази проводили колориметричним методом . Метод заснований на гідролізі крохмалю ферментами амілолітичного комплексу до декстринів різної молекулярної маси. Кількість прогідролізованого крохмалю встановлюють за зміною його забарвлення з йодом в результаті дії амілаз. Інтенсивність забарвлення з йодом вихідного крохмалю та одержаних в результаті гідролізу декстринів вимірюють на фотоколориметрі [5].

Результати. Ушкодження підшлункової залози відбиваються на її функціональному стані: знижується обсяг секреції, дебіт ензимів та бікарбонатів, причому виявляються вони вже на ранніх стадіях захворювання [6].

Оцінка активності *α*-амілази у плазмі крові людини чи тварин є переконливим діагностичним маркером функціонального стану підшлункової залози, а підвищення активності цього ензиму є критерієм розвитку

панкреатиту, доцільно було оцінити активність α-амілази у плазмі крові досліджуваних груп тварин.

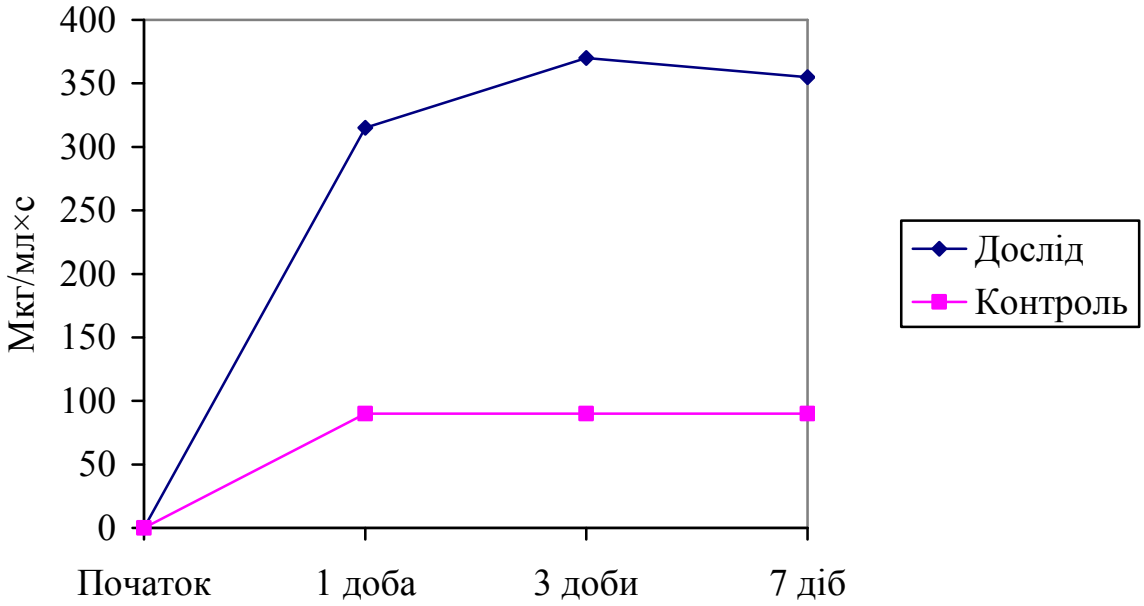


Рис. 1. Активність α-амілази у плазмі крові щурів за гострого панкреатиту: контроль – групі щурів одноразово інтраперитонеально вводили по 0,5 мл ізотонічного розчину натрію хлориду; експеримент – гострий панкреатит у тварин моделювали шляхом одноразового інтраперитонеального введення натщесерце *L*-аргініну гідрохлориду у дозі 4 г/кг, “Sigma”, США

Як свідчать результати проведених нами досліджень, представлені на рис. 1, активність α-амілази у плазмі крові значно зростала вже через добу після моделювання панкреатиту L-аргініном, і перевищувала відповідний показник контрольної групи в 3,4 рази, що узгоджується з даними літератури [7, 8, 9]. Ці дані свідчать про те, що ГП у тварин розвивається досить швидко і зберігається протягом певного терміну, оскільки через три доби та сім діб експерименту активність α-амілази була збільшена у 4,0 та 3,9 рази відповідно у порівнянні з контрольною групою.

Висновки. Встановлено, що за розвитку гострого панкреатиту в динаміці активність амілази у плазмі крові дослідних щурів має тенденцію до зростання

в середньому у 3,7 рази, що свідчить про порушення функціонування клітин підшлункової залози і може слугувати маркером розвитку гострого панкреатиту.

Список літератури

1. *Pezzilli R.* How to evaluate the severity of acute pancreatitis: back to the past?//J. of the Pancreas. – 2012. – V. 13, № 3. – P. 324 – 325.

2. *Медведовська Н. В.* Сучасний стан здоров'я населення працездатного віку в Україні//Україна. Здоров'я нації. – 2010. – № 2. – С. 24 – 33.

3. *Чуклін С. М., Іванків Т. М.* Гострий панкреатит: Методичні рекомендації для студентів. – Львів, 2009. – 33 с.

4. *Губський Ю.І.* Біологічна хімія. – К.,Тернопіль: Укрмед-книга, 2000. – 508 с.

5. *Грачева И. М., Грачев Ю. П., Мосичев М. С.* Лабораторний практикум по технологии ферментных препаратов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1981. – 288 с.

6. *Звягинцева Т.Д., Шаргород И.И.* Дисфункция сфинктера Одди и хронический панкреатит//Сучасна гастроентерологія. – 2013. – Т. 71, № 3. – С. 75 – 82.

7. *Кошельник О. Л., Попов О. Г., Десятський В. В.* Морфологічні маркери гострого запалення підшлункової залози щурів з гострим L-аргініновим панкреатитом і його медикаментозною корекцією//Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2007. – Т.6, №2. – С. 39 – 42.

8. *Hardman J., Jumdar C., Shields C. et al.* Intravenous selenium modulates L-arginine – induced experimental acute pancreatitis//J. Pancreas. – 2005. – №6. – P. 431 – 437.

9. *Hardman J., Shields C., Schofield D. et al.* Intravenous antioxidant modulation of end-organ damage L-arginine-induced experimental acute pancreatitis//Pancreatology. – 2005. – V. 5. – P. 380 – 386.

ТРАНСГЕННІ РОСЛИНИ ЯК ДЖЕРЕЛО ОТРИМАННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ ІНТЕРФЕРОНІВ

Павло Голубєв, Євген Харченко, Оксана Скроцька

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. This article is an overview of recent researches dedicated to development of technologies of recombinant interferon production in transgenic plants. Opportunities for interferon production *in planta* were analyzed. Expediency of using plants as biological agents now and in prospect was discussed.

Keywords: recombinant interferon, transgenic plants, biotechnology, production

Вступ. Виробництво рекомбінантних терапевтичних білків трансгенними рослинами може бути вирішенням проблеми задоволення попиту на якісні препарати для лікування таких серйозних захворювань, як гепатит, СНІД, хронічний гранулематоз, тощо. Одержання цитокінів для їх подальшого використання у медичних та наукових цілях є досить складним та дорогим процесом. Для виробництва таких цитокінів як інтерферони (ІФН) використовують клітини мікроорганізмів, а також перещеплювані культури клітин ссавців. Останні характеризуються малою продуктивністю та складністю процесів, пов'язаних з їх культивуванням та очищенням цільового білку, що відображається на собівартості готової продукції. Окрім того, ці культури, залежно від їх походження, можуть бути контаміновані вірусними частками, які можуть потрапити до організму людини і викликати розвиток вірусного захворювання. Генетично модифіковані клітини мікроорганізмів є більш продуктивними, але в них відсутні механізми посттрансляційного процесингу рекомбінантного білку (глікозилювання, алкілування тощо), які притаманні еукаріотичним клітинам. Крім того, культури бактерій та грибів можуть бути джерелом ендотоксинів, що вимагає спеціальних способів

очищення і контролю цільового продукту. Тому, розглядаючи перспективні продуценти рекомбінантних ІФН, варто відзначити рослини, що можуть виступати в якості привабливої альтернативи традиційним культурам клітин ссавців або мікроорганізмів.

Викладення основного матеріалу. Інтерферони відносяться до класу специфічних білків, що продукуються клітинами людини і тварин. ІФН характеризуються неспецифічною противірусною активністю завдяки здатності включати захисні клітинні механізми, що перешкоджають реплікації вірусів. У геномі людини існує понад два десятки генів інтерферону. Для терапевтичних цілей, важливим є отримання інтерферонів людини у великій кількості. Це може бути досягнуто використанням генно-модифікованих організмів, здатних синтезувати у великій кількості рекомбінантні інтерферони людини. Одними з найбільш цікавих трансгенних продуцентів рекомбінантного інтерферону є рослини.

У якості продуцентів ІФН застосовують представників різних родів рослин. Однією з найпоширеніших для досліджень є родина пасльонових (*Solanaceae*) та її представники: тютюн, томат, картопля (табл.). Представники роду *Nicotiana* надзвичайно широко використовуються дослідниками. На рослинах тютюну були відпрацьовані найрізноманітніші методи генетичної модифікації: агроінфільтрація (з використанням грантової бактерії *Agrobacterium tumefiaciens*), вірусна інфекція (наприклад, вірусом тютюнової мозаїки), магніфекція (роздільне введення провекторів), біобалістика [1].

Варто зауважити, що однакова продукція інтерферону рослинами за різних умов може характеризуватися різною силою біологічної дії. Тому найбільш показовим параметром для порівняння рекомбінантних рослин є активність одержаного інтерферону. З наведених у таблиці 1. даних видно, що найбільшу продуктивність мають рослинні моделі листя салату або латуку посівного (*Lactuca sativa*), що продукують ІФН у кількості $6{,}2\times10^4$ МО/г

рослинної маси, та листя гарбузу (*Cucurbita pepo*), що характеризуються синтезом ІФН на рівні $4{,}3\times10^5$ МО/г рослинної маси.

Таблиця1. Синтез рекомбінантного інтерферону трансгенними рослинами

Тип ІФН	***Продуцент***	***Рівень експресії ІФН***	***Джерело***
ІФН-α	Томат (листя і калусна культура)	923–3029 МО/г маси рослини	[2]
ІФН-α2	Гарбуз, огірок	$4{,}3\times10^5$ МО/г листя	[3]
ІФН-α2	Алое вера	$9{,}53\times10^2$ МО/г листя	[4]
ІФН-α2b	Тютюн	$(2.1\pm0.8)\times10^3$ МО/г листя	[5]
	Листя тютюну, трансформовані хлоропласти	3 мг/г (20% від розчинних білків)	[6]
	Морква	$26{,}8\times10^3$ МО/г молодих листків; $8{,}56\times10^3$ МО/г коренеплодів	[7]
ІФН-α2b, ІФН-α8	Картопля	560 МО/г тканини	[8]
ІФН-β	Листя салату	$3{,}1\times10^4$ МО/мл	[9]
ІФН-γ	Калусна культура рису	11,1 – 17,4 нг/мл (екзогенний); 131,6 – 699,79 нг/г клітин (ендогенний)	[10]
	Листя цукіні	1,0 – 1,2 мг / 100 г свіжої рослинної маси	[11]

На базі трансгенної системи синтезу ІФН в рослинах можна отримати економічно вигідні і біологічно активні препарати інтерферонів. Як приклад можна привести комерційний препарат рекомбінантного ІФН-α2b, що на даний момент знаходиться на стадії клінічних досліджень. Біосинтез ІФН здійснювали з використанням високоефективної платформи на основі ряски малої (*Lemna minor*) [12].

Крім переваг рослині продуценти мають також і недоліки. Основний недолік використання більшості видів рекомбінантних рослин для одержання інтерферону полягає у низькій продуктивності. За нашими розрахунками для одержання однієї терапевтичної дози ІФН-α активністю 5×10^6 МО з листя згаданого вище гарбуза (табл.1.), який характеризується відносно високою продуктивністю, необхідно одержати, переробити та очистити близько 11,6 г рослинної сировини. Якщо припустити, що 1 $м^2$ засадженої гарбузом площі дає 500 г листя, то з цієї ж площі можна отримати близько 43 терапевтичних доз ІФН. Економічні обмеження пов'язані з ресурсом часу – для одержання зрілого листя потрібно близько місяця. За цей час можна провести до 6 циклів виробництва рекомбінантного інтерферону з використанням дріжджової культури *Yarrowia lipolytica* з продуктивністю за інтерфероном 50 мг/л і активністю $2{,}1\times10^7$ МО/мг інтерферону [13], тобто отримати 2325 таких самих доз лише з 1 л культуральної рідини. Втім цей недолік не відіграє великого значення, коли мова йде про специфічні продукти та річний попит, що легко задовольняється менш продуктивними технологіями. До таких препаратів, наприклад, належить ІФН-γ.

Іншим недоліком є потреба у сільськогосподарських площах. Даний недолік може бути нівельований інтенсифікацією біологічних процесів, що направлені на одержання цільового білку у клітинах рослин. Також на трансгенні рослини поширюються такі проблеми сільськогосподарських культур як сезонність виробництва та необхідність циклічної зміни культур для регенерації ґрунтів, втім вони в теорії можуть бути частково компенсовані за рахунок використання теплиць та застосування фізіологічно різних продуцентів одного й того самого білку.

Але, незважаючи на деякі недоліки, рослини є перспективним класом біологічних агентів для виробництва рекомбінантних цитокінів, зокрема, інтерферонів. Оскільки їх використання має ряд переваг: відсутність спільних з людиною вірусних захворювань, подібні до людських механізми експресії

цільових генів та процесингу продуктів експресії, відсутність ризику потрапляння у продукт небезпечних бактеріальних ендотоксинів. До переваг використання продуцентів-рослин також варто віднести зручність процесу виробництва та відсутність жорсткого контролю і строгого дотримання специфічних умов, як при культивуванні бактеріальних продуцентів та інших клітин, оскільки цільовий продукт синтезується і накопичується при рості цілої рослини, яку можна вирощувати в польових або тепличних умовах.

Висновки. Враховуючи наведені вище дані, проаналізовані переваги та недоліки використання генно модифікованих рослин, можна зробити висновок про те, що трансгенні рослини є перспективним класом біологічних агентів для одержання рекомбінантних цитокінів, зокрема інтерферонів. З ростом вимог до рівня технологічності та безпечності лікарських препаратів, вірогідним є впровадження технологій одержання рекомбінантних терапевтичних білків *in planta* поряд із поширеними на даний момент способами. Ефективність та доцільність використання трансгенних рослин є питанням направленості та темпів науково-технічного розвитку в галузі сучасних біотехнологій у найближчі 50 років.

Список літератури

1. *Budzianowski J.* Tobacco – a producer of recombinant interferons // Przegl. Lek. – 2014, Vol. 71. – P. 639-643.

2. *Sawahel W.A.* The production of transgenic potato plants expressing human alpha-interferon using lipofectin-mediated transformation // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2002. – Vol. 7. – P. 19-29.

3. *Arazi T., Slutsky S.G., Shiboleth Y.M. et al*. Engineering zucchini yellow mosaic potyvirus as a non-pathogenic vector for expression of heterologous proteins in cucurbits // J. Biotechnol. – 2001. – Vol. 87. – P. 67-82.

4. *Lowther, W., Lorick, K., Lawrence, S., Yeow, W.-S.,* Expression of biologically active human interferon alpha 2 in Aloe vera // Trans-genic Res. – 2012. – Vol. 21. – P. 1349-1357.

5. *Sindarovska Y.R., Gerasymenko I.M., Sheludko Y.V. et al*. Production of human interferon alfa 2b in plants of nicotiana excelsior by agrobacterium mediated transient expression. ISSN 0564–3783 // Цитология и генетика. – 2010. – № 5. С. 60-64.

6. *Arlen P.A., Falconer R., Cherukumilli S. et al*. Field production and functional evaluation of chloroplast-derived interferon-alpha2b // Plant Biotechnol. J. – 2007. – Vol. 5. – P. 511-525.

7. *Luchakivskaya Y., Kishchenko O., Gerasymenko I. et al*. High-level expression of human interferon alpha-2b in transgenic carrot (*Daucus carota* L.) plants // Plant Cell Rep. – 2011. – Vol. 30. – P. 407-415.

8. *Ohya K., Matsumura T., Ohashi K. et al*. Expression of two subtypes of human IFN-alpha in transgenic potato plants // J. Interferon Cytokine Res. – 2001. – Vol. 21. – P. 595-602.

9. *Li J., Chen M., Liu X.-W. et al*. Transient expression of an active human interferon-beta in lettuce // Sci. Hortic. – 2007. – Vol. 112. – P. 258-265.

10. *Chen T.L., Lin Y.L., Lee Y.L. et al*. Expression of bioactive human interferon-gamma in transgenic rice cell suspension cultures // Transgenic Res. – 2004. – Vol. 13. – P. 499-510.

11. *Hosseini S., Shams-Bakhsh M., Salamanian A., Yeh S*. Expression and purification of human interferon gamma using a plant viral vector // Progress in Biological Sciences. – 2012. – Vol. 2. – P. 104-115.

12. *De Leede L.G., Humphries J.E., Bechet A.C. et al.* Novel controlled release Lemna–derived IFN–alpha2b (Locteron): pharmacokinetics, pharmacodynamics, and tolerability in a phase I clinical trial // J. Interferon Cytokine Res. – 2008. – Vol. 28. – P. 113-122.

13. *Gasmi N., Ayed A, Nicaud J.M., Kallel H*. Design of an efficient medium for heterologous protein production in *Yarrowia lipolytica*: case of human interferon alpha 2b // Microb. Cell Factories. – 2011. – URL: http://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-10-38.

ВЛИЯНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ГЕРОПРОТЕКТОРНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ МЫШЕЙ

Ольга Горобец, Вікторія Красинько

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

Тетяна Дубилей

ДО «Институт геронтологии им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины», г. Киев, Украина

Abstract. In experiments carried out on male and female C57BL / 6 mice the effects of metformin, aspirin and metformin combined with aspirin or aspirin and simvastatin on life expectancy were studied. The results show the positive effect of metformin on survival of mice of both sexes. No significant effect of aspirin on the duration of animal life have been identified. The combination of metformin with aspirin or aspirin and simvastatin reduces the geroprotector activity of metformin.

Keywords: aspirin, metformin, simvastatin, mice, life span.

Введение. Старение представляет собой сложный многофакторный процесс молекулярного и клеточного упадка, который с течением времени влияет на функцию тканей, что делает организм хрупким и восприимчивым к болезням и смерти [1]. В течение последних десятилетий интенсивный поиск антивозрастных процедур привел к открытию целого ряда препаратов, которые способствуют улучшению здоровья и/или продлению жизни [2].

Существует быстро растущий объем литературы, демонстрирующий эффективность применения метформина – известного антидиабетического препарата – в лечении многочисленных заболеваний, включая рак и сердечно-сосудистую патологию. Кроме того, есть основания предположить, что

метформин задерживает процесс старения и модулирует микрофлору для укрепления здоровья [3].

Еще одним потенциальным геропротекторным препаратом является аспирин, который использовался в течение многих лет в качестве анальгетика, жаропонижающего и противовоспалительного лекарственного средства благодаря способности неселективно блокировать циклооксигеназу (ЦОГ)-1 и ЦОГ-2 (исторически в высоких дозах). Позже аспирин стали назначать для профилактики тромботических сердечно-сосудистых осложнений, а также в качестве антитромбоцитарного лекарственного средства, благодаря преобладающему ингибированию ЦОГ-1 в тромбоцитах (в низких дозах) [4].

Симвастатин принадлежит к класу статинов, которые показаны для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и являются одними из наиболее часто назначаемых классов лекарственных препаратов. В основе механизма действия симвастатина лежит частичная обратимая блокада фермента ГМГ-КоА-редуктазы, ответственного за синтез холестерина. Снижение высокого уровня холестерина в крови или холестерина липопротеидов низкой плотности с помощью статинов позволяет уменьшить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [5].

В ряде исследований было показано, что метформин снижал уровень липопротеинов низкой плотности и холестерина в крови животных, что характеризует его потенциал в профилактике атеросклероза [6]. Однако наиболее ценным открытием была способность метформина снижать частоту развития новообразований [7]. Продление максимальной продолжительности жизни животных на фоне приема метформина и других бигуанидов достигает примерно 30 %. Также, известно, в работах Strong R. et al. [8] и Ayyadevara S. et al. [9] что аспирин продлевает жизнь животных разных видов. Spindler S. R. et al. в своей работе [10] показали, что терапия статинами увеличивает

продолжительность жизни и улучшает сердечную функцию у дрозофил за счет подавления специфического пренилирования белков.

Развивающиеся при старении заболевания в большинстве случаев являются результатом комплексного нарушения метаболизма, часто вызванного негативными факторами внешней среды. Поэтому пожилые люди нуждаются в комплексной терапии, и подбор эффективных комплексов лекарственных средств для лечения возрастных заболеваний является актуальной задачей, которая стоит перед геронтологией.

Одним из перспективных направлений геронтологических исследований является исследование комбинаций фармацевтических препаратов, с целью потенцирования действия в различных сочетаниях для комплексной профилактики и лечения возрастных заболеваний, в свою очередь приведет к увеличению продолжительности жизни.

Целью настоящего исследования было изучение влияния комбинированного действия потенциальных геропротекторных препаратов – метформина, аспирина и симвастатина – на продолжительность жизни мышей.

Материалы и методы. Исследования проведены на самках и самцах мышей линии C57Bl/6 питомника ГУ «Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины» в возрасте 16–18 месяцев на момент начала получения препаратов. Животных содержали в условиях вивария при температуре t = 22 – 23 ^{0}C, в условиях освещенности 12/12 часов свет/темнота, со свободным доступом к воде и пище. Мышей разделили на 5 групп: контрольная группа (К) получала корм без препаратов, экспериментальная группа 1 – корм с добавлением аспирина (А), метформина (М) и симвастатина (С); группа 2 – с добавлением аспирина и метформина; группа 3 – метформина; группа 4 – аспирина. Животные получали корм с препаратами до конца жизни в общепринятой дозе с учетом потребления пищи и в перерасчете на массу тела.

В процессе эксперимента проводили учет смертности. Умерших животных подвергали посмертному осмотру на наличие макроскопических изменений внутренних органов. Органы взвешивали и рассчитывали индекс массы (масса органа *100% / маса тела).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Excel.

Результаты и их обсуждение. Как видно из рисунка, у самцов мышей все исследованные препараты оказали положительное влияние на медианную продолжительность жизни (продолжительность жизни, до которого доживает 50 % популяции). В контрольной группе эта величина составляла 596 сут, в группе животных, получавших аспирин – 623 сут (+4 %), метформин – 683 сут (+15 %), аспирин+метформин – 644 сут (+8 %), аспирин+метформин+симвастатин – 659 сут (+10 %). В отличие от медианной продолжительности жизни, максимальная продолжительность жизни в группе самцов мышей, получавших аспирин или комбинацию аспирин+метформин+симвастатин оказалась ниже, чем у контрольных животных.

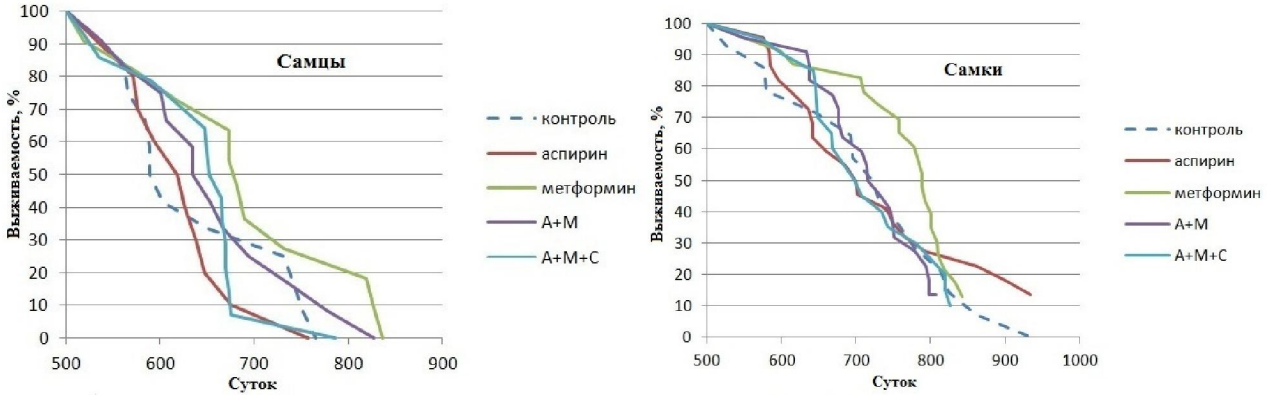


Рис. 1. **Кривые выживания самцов и самок**

У самок контрольной группы медианная продолжительность жизни была существенно выше, чем у самцов – 722 сут. В группе животных, получавших

аспирин она составляла 700 сут (-3 %), метформин – 789 сут (+9 %), аспирин+метформин – 716 сут (-1 %), аспирин+метформин+симвастатин – 698 сут (-3 %). Максимальная продолжительность жизни была наибольшей в группе мышей, получавших аспирин.

Посмертное взвешивание животных и определение индекса массы внутренних органов не выявили существенных отклонений указанных параметров от соответствующих величин в контрольных группах мышей (таблица 1.). Это может указывать на отсутствие токсического эффекта от хронического приема использованных лекарственных средств.

Таблица 1. Посмертная масса тела и индекс массы органов (M ± m)

Группа мышей	Масса тела, г	Индекс массы, %				
		Почки	Селезенка	Печень	Легкие	Сердце
Самцы						
К	16,38 ± 1,13	1,58 ± 0,08	0,25 ± 0,02	5,76 ± 0,43	1,07 ± 0,12	1,05 ± 0,08
А+М+С	16,83 ± 0,74	1,44 ± 0,08	0,33 ± 0,09	5,15 ± 0,26	1,2 ± 0,14	0,98 ± 0,06
А+М	15,68 ± 0,9	1,46 ± 0,08	0,34 ± 0,06	4,78 ± 0,36	1,18 ± 0,06	1,08 ± 0,05
М	18,01 ± 0,69	1,53 ± 0,09	0,33 ± 0,05	5,97 ± 0,4	1,05 ± 0,07	1,04 ± 0,04
А	17,08 ± 0,65	1,67 ± 0,12	0,46± 0,1	5,24 ± 0,5	1,2± 0,1	1,0 ± 0,04
Самки						
К	14,06 ± 0,48	1,45 ± 0,12	0,46 ± 0,08	5,63 ± 0,55	1,26 ± 0,07	0,96 ± 0,08
А+М+С	14,23 ± 0,8	1,58 ± 0,14	0,36 ± 0,09	5,57 ± 0,4	1,15 ± 0,11	1,04 ± 0,07
А+М	14,84 ± 0,77	1,53 ± 0,03	0,47 ± 0,12	6,3 ± 0,53	1,37 ± 0,07	1,0 ± 0,06
М	16,18 ± 1,9	1,51 ± 0,07	0,65 ± 0,27	7,13 ± 1,78	1,21 ± 0,12	1,0 ± 0,06
А	13,21 ± 0,57	1,63 ± 0,08	0,4± 0,05	5,82 ± 0,41	1,21 ± 0,12	0,99 ± 0,09

Выводы. Полученные результаты подтвердили имеющиеся в литературе данные о высокой геропротекторной активности метформина. В то же время положительное влияние аспирина на выживаемость мышей в наших экспериментах оказалось намного слабее, чем можно было ожидать, исходя из представленных в литературе сведений. Сочетание метформина с аспирином

либо с аспирином и симвастатином привело к снижению пролонгирующего эффекта данного препарата на продолжительность жизни животных.

Список литературы

1. *Carmona J. J., Michan S.* Biology of Healthy Aging and Longevity // Rev. Invest Clin. – 2016. – V. 68 (1). – P. 7 – 16.

2. *Novelle M. G., Ali A., Diéguez C.* et al. Metformin: A Hopeful Promise in Aging Research // Cold Spring Harb Perspect Med. – 2016. – V. 6 (3). – a025932.

3. *Pryor R., Cabreiro F.* Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets // Biochem. J. – 2015. – V. 471 (3). – P. 307 – 22.

4. *Dzeshka M. S., Shantsila A., Lip G. Y.* Effects of Aspirin on Endothelial Function and Hypertension // Curr. Hypertens Rep. – 2016. – V. 18 (11). – 83 P. 1 – 12.

5. *Kitzmiller J. P., Mikulik E. B., Dauki A. M.* et al. Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects // Pharmgenomics Pers Med. – 2016. – V. 9. – P. 97 – 106.

6. *Martin-Montalvo A., Mercken E. M., Mitchell S. J.* et al. Metformin improves healthspan and lifespan in mice // Nat. Commun. – 2013 // Електронний ресурс: Режим доступу: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23900241

7. *Anisimov V. N., Berstein L. M., Popovich I. G.* et al. If started early in life, metformin treatment increases life span and postpones tumors in female SHR mice // Aging (Albany NY). – 2011. – V. 3 (2). – P. 148 – 57.

8. *Strong R., Miller R. A., Astle C. M.* et al. Nordihydroguaiaretic acid and aspirin increase lifespan of genetically heterogeneous male mice //Aging Cell. – 2008. – V. 7, № 5. – P. 641 – 50.

9. Ayyadevara S., Bharill P., Dandapat A. et al. Aspirin inhibits oxidant stress, reduces age-associated functional declines, and extendslifespan of Caenorhabditis elegans // Antioxid Redox Signal. – 2013. – V. 18, № 5. – P. 481 – 90.

10. Spindler S. R., Li R., Dhahbi J. M. et al. Statin treatment increases lifespan and improves cardiac health in Drosophila by decreasing specific protein prenylation // PLoS One. – 2012. – V. 7, № 6. – P. e39581.

ДОСЛІДЖЕННЯ НОРМАЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ ЛЮДИНИ

Соломія Гривняк, Максим Суховий, Марія Курка, Роксолана Конечна, Володимир Новіков

Національний університет «Львівська політехніка», м. Львів, Україна

Ореста Василів

Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна

Анотація. Виділено ізолят слизової оболонки зіву, здійснено опис його культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних властивостей та проведено видову ідентифікацію ізоляту.

Ключові слова: нормальна мікрофлора людини, біотоп, виділення ізоляту.

Вступ. Мікрофлора людини є сукупністю мікробних біоценозів, які формують надорганізменну симбіотичну систему. Їхня кількість в десятки, а то й сотні разів перевищує кількість клітин макроорганізму, тому часто її кваліфікують як своєрідний екстракорпоральний орган [1-3, 9-12].

Така система є динамічною – кількісний та видовий склад змінюється протягом онтогенезу під впливом багатьох факторів, хоча окремі біоценози характеризуються відносною сталістю [3, 4, 8].

Нормальна мікрофлора відіграє дуже важливу роль в життєдіяльності людини. Симбіонти беруть участь в метаболізмі, синтезі різних низькомолекулярних і високомолекулярних сполук, регулюють обмінні процеси макроорганізму та впливають на його морфокінетику, а також забезпечують колонізаційну резистентність організму [3, 4, 7-11].

Зважаючи на вищезазначене, метою роботи було дослідити якісний склад мікрофлори тіла людини, також провести виділення та ідентифікацію представників ізоляту обраного біотопу.

Матеріали та методи дослідження. Для дослідження мікрофлори тіла проводили посів на живильні середовища: Сабуро (СС), сироватковий агар (СА), середовище Ендо та середовище Байрд-Паркера відібраних зразків із трьох біотопів: слизової оболонки зіву, шкіри рук та волосся. Культивували при 37^{o}С протягом 7 діб. Ізолят відбирали з урахуванням основних характеристик, притаманних представникам роду *Staphylococcus*.

Для подальшої диференціації виділеного ізоляту здійснювали посів а елективні та диференційні живильні середовища: середовище з 0,02 % фуразолідону, жовтково-сольовий агар, молочно-сольовий агар (МСА, 6,5 % NaCl), сольовий агар для стафілококів з 0,1 % розчином кристалічного фіолетового. Культивували при температурі 37^{o}С протягом 7 діб. Здатність ізоляту до росту при температурі 15^{o}С та 45^{o}С досліджували шляхом посіву на середовище МПА та культивування при температурі 15^{o}С та 45^{o}С відповідно, протягом 7 діб.

Здатність до зброджування та окиснення глюкози, маніту, лактози, сахарози, мальтози, фруктози, арабінози та ксилози за аеробних та глюкози і маніту за анаеробних умов, а також здатність мікроорганізмів до руху оцінювали через посів у напіврідкі середовища Гіса. Культивували при температурі 37^{o}С протягом тижня та при 35^{o}С ще 14 діб.

Здатність ізоляту до пігментоутворення, утворення желатинази та ферментації маніту оцінювали шляхом посіву на стафілококовий агар № 110. Культивували протягом 7 діб при 37^{o}С. Здатність до гемолізу виявляли через посів на кров’яний агар. Облік результатів проводили за наявністю чи відсутністю зон гемолізу навколо колоній через 42 год інкубування при 37^{o}С.

Для визначення здатності до продукування дезоксирибонуклеази (ДНК-ази) висівали культуру на середовище МПА, що містило 0,2 % ДНК і тулоїдиновий синій О та культивували 7 діб при 37 ^{o}С. Желатиназну активність виявляли шляхом посіву у напіврідке середовище з додаванням 4 % желатини. Культивували 5 тижнів при 37 ^{o}С.

Фосфатазну активність визначали на середовищі МПА, що містило 0,01 % розчину солі натрій дифосфату фенолфталеїну. Культивували протягом 5 діб при 37 ^{o}C і ще 2 дні при кімнатній температурі. Після чого проводили реакцію з нашатирним спиртом. Каталазну активність виявляли шляхом додавання 3 % розчину H_2O_2. Для визначення оксидазної активності використовували стандартні паперові диски, насичені хромогенним субстратом.

Визначення розчинної плазмокоагулази проводили при додаванні до розведеної 1:4 плазми кроля, чистої добової культури ізоляту. Інкубували при температурі 37^{o}C. Результат оцінювали в порівнянні з контролями (позитивний K_{1+} *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, K_{2+} *Staphylococcus aureus* (патогенний штам), К- – без додавання культури) через 30 хв та через 2 і 24 год. Для визначення наявності мембранозв'язаної плазмокоагулази проводили реакцію визначення "пластівцевого" фактору злипання. Фібринолітичну активність досліджували шляхом додавання розведеної 1:4 плазми кроля суспензії клітин, концентрацією 2×10^{9} кл./мл та 0,25 мл 0,25 % розчину $CaCl_2$. Інкубували при температурі 37^{o}C. Результати оцінювали через 20 хв. та порівнювали з контролем.

Визначення антибіотикочутливості проводили диско-дифузійним методом. Використовували препарати: неоміцин, лінкоміцин, рифампіцин, поліміксин та новобіоцин. Чутливість до лікарських бактеріофагів (БФ1 та БФ2) досліджували шляхом посіву суспензії концентрацією 5×10^{8} кл./мл на МПА. Культивували при температурі 37^{o}C протягом 20 год.

Реакцію аглютинації проводили з використанням 2 антисироваток. Облік результатів здійснювали після 2 год інкубування при 37^{o}C, після чого ще 20 год витримували при кімнатній температурі.

Протягом дослідження здійснювали посів клітин на скошену агаризовану поверхню МПА для підтримання культури.

Результати і обговорення. Для дослідження мікрофлори волосся, шкіри рук та слизової оболонки зіву було здійснено посів на селективні середовища. Після культивування ріст на середовищах Ендо та Сабуро не спостерігався.

Мікрофлора слизової оболонки зіву виявилася найбіднішою – спостерігалося утворення дрібних колоній золотистого кольору з рівними краями на сироватковому агарі, селективному до представників роду *Streptococcus* групи B, D, а також роду *Corynebacterium,* та золотистих колоній неправильної форми з нерівними краями на середовищі Байрд-Паркера, селективному для виділення представників роду *Staphylococcus* та *Micrococcus*.

Серед представників мікрофлори волосся було виявлено 1 колонію стрептококів на СА та 3 колонії різного типу на СБП. Найбільш різноманітною виявилася мікрофлора шкіри рук – на СБП спостерігався ріст колоній, білого, золотистого, жовтого кольору, а також були колонії неоднорідні за забарвленням, а на СА – колонії білого та жовтого кольорів.

При мікроскопії члени 3 досліджуваних біоценозів – кокоподібні мікроорганізми, мали позитивне забарвлення за Грамом розміщувалися у полі зору поодиноко, у формі коротких і довгих ланцюжків, та у неправильних скупченнях, що іноді нагадують грона винограду. Деякі з ізолятів виявляли здатність до капсулоутворення. Окрім того, на середовищі СБП у ізолятів, виділених із шкіри рук, слизової оболонки зіву та волосся було виявивлено лецитиназну активність, а деякі з представників проявляли ліпазну та протеазну активності.

Для дослідження було обрано ізолят із слизової оболонки зіву. Його колонії мали неправильну форму та кремово-золотистий колір з нерівними краями і характеризувалися вираженою лецитиназною, ліпазою та протеазною активностями. Окрім того, при мікроскопії клітини ізоляту були середнього розміру, розміщувалися у характерних скупченнях форми грона винограду і утворювали капсулу (рис. 1).

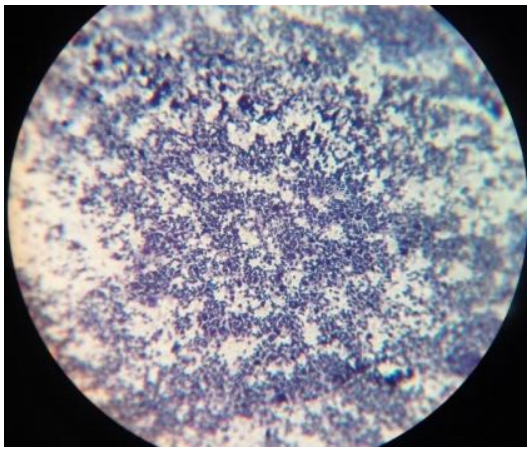


Рис. 1. Фіксований препарат культури клітин ізоляту мікрофлори шкіри рук роду *Staphylococcus.*

На середовищі з телуритом виросли колонії чорного, темно-сірого кольору, тобто даний ізолят володів редуктазною активністю. Однак, не спостерігалося лецитиназної, ліпазної та протеазної активностей. Вони були відсутніми і при подальшому культивуванні на ЖСА. На МСА не спостерігалося казеїназної активності, а колір колоній був молочно-білий, тобто здатність до пігментоутворення також відсутня. На середовищі з фуразолідоном ріст не спостерігався, що підтверджувало приналежність даного ізоляту до роду *Staphylococcus*. Спостерігався ріст колоній при температурі культивування 45 ^{o}C, а при 15 ^{o}C – не спостерігався. Желатиназна активність у даного ізоляту відсутня.

Була виявлена здатність до зброджування мальтози, сахарози, фруктози, лактози та глюкози з утворенням кислоти за аеробних умов. За анаеробних умов спостерігалася здатність ферментувати глюкозу з утворенням кислоти. Даний ізолят не ферментує маніт та ксилозу. Нездатність до ферментації маніту була підтверджена негативним результатом реакції Сотуна на стафілококовому агарі № 110. Крім того, на цьому середовищі було підтверджено відсутність желатиназної активності.

Після доби культивування на кров’яному агарі спостерігалися зони просвітлення, які засвідчували здатність ізоляту здійснювати завершений лізис еритроцитів. На середовищі стафілококовий агар ріст культури не

спостерігався, що вказує на непатогенність. Також у даного ізоляту відсутня здатність розкладати ДНК, внаслідок чого не відбувалося формування зон рожевого кольору навколо колоній, що виросли на ДНК-азному агарі. Крім того, культура не здатна продукувати плазмокоагулазу та фібринолізин: у першому випадку згусток не утворювався взагалі, а у другому утворений за додавання кальцій хлору згусток – не розчинявся.

При визначенні оксидази не відбувалася зміна кольору колоній, що є негативною реакцією, отже фосфатазна активність відсутня.

Спостерігалася чутливість ізоляту інтесті-бактеріофагу (БФ-2), а до лікарського препарату стафілококового бактеріофагу (БФ-1) чутливості не було виявлено, що свого роду підтверджує непатогенність цього ізоляту.

Ізолят виявився чутливим до дії неоміцину, еритроміцину та рифаміцитину, не чутливим до поліміксину та стійким до лінкоміцину.

При проведенні серологічного дослідження встановили значення діагностичного титру, яке складало 1:8, що підтверджує приналежність до роду *Staphylococcus*.

Визначення видової назви ізоляту здійснювали за визначником Берджі.

За здатністю зброджувати вуглеводи з утворенням кислоти та відсутності ферментації маніту як за аеробних, так і за анаеробних умов та з урахуванням попередньо згаданих ознак, схожість ізоляту максимально наближалася до трьох видів: *S. epidermidis, S. hominis ma S. Auricularis*. Проте, за відсутністю фосфатазної активності вдалося віднести ізолят до виду *S. Hominis*.

Висновки. Здійснивши дослідження мікрофлори слизової оболонки зіву, шкіри рук та волосся власного тіла було встановлено, що найбільш різноманітною є мікрофлора шкіри рук, через постійний контакт з оточуючим середовищем. Виділений із слизової оболонки зіву ізолят роду *Staphylococcus* належав до непатогенних стафілококів, які здійснюють β-гемоліз та не проявляють ні фібринолітичної, ні плазмокоагулюючої активностей. Ізолят чутливий до дії неоміцину, еритроміцину та рифаміцитинута до інтесті-бактеріофагу. За основними властивостями ізолят проявляє найбільшу схожість до виду *S. hominis*.

Список літератури

1. Білько І. П. Нормальна мікрофлора органів дихання, статевих, сечовивідних органів та органів зору і слуху людини /Білько І. П.// Сімейна медицина. – 2005. – № 1. – С. 52–53;

2. Бондаренко В.М. Микрофлора человека: норма и патология /Бондаренко В.М.// «Наука в России». – 2007. – № 1. – Режим доступа: http://www.denza dnem.ru/page.php?article=310.

3. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, имунология, вирусология: учебник. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. – 4е изд.. - 140-147, 354- 360, 685-688 с.

4. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, имунология, вирусология: учебник для мед. вузов /А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – СПб.: СпецЛит, 2008. – 4е изд., - 149-152, 409, 655-660 с.

5. Микрофлора полости рта, дисбактериоз и пути его коррекции пробиотиками /Соколова И. И, Скидан К. В., Воропаева Л. В. [и др.]//Теоретична і експериментальна медицина. – 2010. - № 2. – С. 64-69.

6. Нормальна мікрофлора урогенітального тракту та її роль у підтриманні імунітету слизових оболонок /О. С. Воронкова, О. А. Сірокваша, Т. М. Полішко [та ін.]// Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2008. – Т.1. № 16, – С. 51–56.

7. Симонова Е. В. Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья человека /Симонова Е. В., Пономарева О. А.// Сибирский медицинский журнал. – 2008. - № 8. – С.20-25.

8. Фуртат І. М. Методичні рекомендації та практичні завдання до лабораторних робіт з курсу «Біологічні основи інфекційних процесів». – Київ. — 2005. – 50 с.

9. O'Hara A. M. The gut flora as a forgotten organ /A. M. O'Hara, F. Shanahan// EMBO reports. – 2006.– V.7.– P.688–693.

10. The Genera Staphylococcus and Macrococcus / Gotz F., Bannerman T., Schleifer K. [et al.] // Prokaryotes. – 2006.– V. 4. – P.5–75.

11. Simonova E. V. The role of normal microflora in supporting human health /E. V. Simonova, O. A. Ponomareva// Irkutsk State Medical University. – 2008. – V. 8. – P.20–25.

12. Todar K. The Normal Bacterial Flora of Humans [Electronic resourse]. – Mode of access: http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html. Sears C. L. A dynamic partnership: Celebrating our gut flora /C. L. Sears// Anaerobe. - 2005. – V. 11 – P.247–251.

ЧИННИКИ, ЩО ПРИЗВОДЯТЬ ДО РОЗВИТКУ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І ТА ІІ ТИПУ

Людмила Диптан, Вікторія Красінько

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Abstract. The work is devoted to the problem of diabetes, such as factors that can cause the disease. The basic types of diabetes and their brief characteristics, causes and some of principles of treatment of disease.

Keywords*:* diabetes, insulin, factors, principles of treatment.

Вступ. У розвинутих країнах світу щорічно реєструється 2...6 % хворих на цукровий діабет (ЦД) від загальної кількості населення. За даними Всесвітньої федерації цукрового діабету (IDF) Україна належить до числа країн з високими темпами прогресування захворюваності на ЦД [1].

Цукровий діабет – це група метаболічних захворювань, що характеризуються гіперглікемією, яка є результатом дефектів секреції інсуліну, дії інсуліну або обох цих факторів. В результаті цього можуть виникати хронічні ускладнення, що призводять до пошкодження або відмови різних органів, зокрема, очей, нирок, серця та кровоносних судин [2].

Цукровий діабет І типу (інсулінозалежний) – захворювання аутоімунної природи, що характеризується виробленням в організмі людини антитіл до β-клітин підшлункової залози, що приводить до загибелі всіх цих клітин. В результаті цього інсулін перестає вироблятися, а концентрація глюкози в крові підвищується. З’являється потреба у введенні штучного гормону.

Цукровий діабет ІІ типу (інсулінонезалежний) – хронічне захворювання обміну речовин неімунної природи.

Основний механізм розвитку – зниження чутливості тканин організму до власного інсуліну [3]. На самому початку захворювання рівень глюкози в крові не зростає, оскільки β-клітини не так сильно ушкоджені, і для подолання

інсулінорезистентності інсулін синтезується в підвищеній кількості. Виникає гіперінсулінемія, що до певного часу, хоч і підтримує нормальний рівень глюкози в крові, але сприяє зниженню функції *β*-клітин. Інсулінорезистентність порушує ліпідний і вуглеводний обмін, у результаті цього виникають різні патологічні процеси. Вони сприяють пригніченню роботи клітин, які продукують інсулін, і збільшують негативні наслідки інсулінорезистентності [4].

Таблиця 1. Основні характеристики цукрового діабету I та II типу

Ознаки	I тип (інсулінозалежний)	II тип (інсулінонезалежний)
Поширеність захворюваності	0,2 – 0,5 %, обидві статі вражаються однаково	2 – 4 %, жінки хворіють частіше за чоловіків
Вік	Діти, молоді люди	Дорослі
Сезонність	Осінньо-зимовий період	Відсутня
Початок хвороби	Гострий, можлива кома	Повільний, поступовий
Перебіг захворювання	Лабільний, часто тяжкий	Стабільний
Кетоацидоз	Схильні	Рідко
Статура людей	Худі	Часто ожиріння
Втрата ваги	Відбувається	Схуднення дуже рідко
Концентрація інсуліну в крові	Низька або не визначається	Часто нормальна; може бути підвищеною
Пізні ускладнення	Мікроангіопатії	Макроангіопатії
Антитіла до β- клітин	Наявні	Відсутні
Кількість β-клітин	2-10 %	80 %
Зв'язок з автоімунними захворюваннями	Часто	Відсутній
Зв'язок з HLA	B8, B15, Dw3, Dw4; DR3 та DR4 (майже у 95 % хворих)	Немає
Лікування	Інсулінотерапія	Дієта; сульфонілсечовинні та цукрознижувальні препарати; інсулінотерапія

Даний тип цукрового діабету може виникнути внаслідок процесів, що можуть негативно вплинути на підшлункову залозу (панкреатит, травма, рак підшлункової залози та ін.) [2]. Крім цього, діабет може викликати тривале вживання певних медикаментів [3].

Узагальнені характеристики цукрового діабету обох типів наведено в таблиці 1.

Не зважаючи на те, що однозначних причин цукрового діабету на сьогодні не виявлено, існують певні фактори ризику розвитку даного захворювання. Вони являють собою сукупність факторів схильності. Їх розуміння допомагає в ряді випадків правильно скласти прогноз перебігу та розвитку захворювання, а інколи й попередити виникнення цукрового діабету.

Аналізуючи фактори ризику розвитку цукрового діабету І типу, треба зазначити, що досі досліджені кілька причин: віруси; брак грудного вигодовування й раннє годування дитини коров'ячим молоком; наявність азотистих речовин, токсинів у їжі та воді; недостатня опірність організму деяким антигенам, зумовлена, наприклад, надмірним очищенням води в розвинених країнах, однак остаточних причин виникнення діабету І типу не знайдено.

Отже, основні причини розвитку інсулінозалежного цукрового діабету:

- *Вірусні інфекції* – до вірусних інфекцій, які можуть ініціювати діабет, належать наступні: краснуха; вітрянка; епідемічний паротит (свинка); вірус Коксакі В3, В4; вірусний гепатит; реовірус типу-3; цитомегаловірус; вірус енцефаломіокардиту, інфекційного мононуклеозу тощо [4].
- *Брак грудного вигодовування* — досить вагомий фактор ризику. Дослідження, проведені у Фінляндії, засвідчили, що всіх дітей, які занедужали діабетом цього типу, у дитинстві матері не годували грудним молоком [4].
- *Раннє вигодування дитини коров'ячим молоком*. Коров'яче молоко містить речовину білкової природи, названу вченими «аббос». Ця речовина сприяє утворенню антитіл, що руйнують β-клітини підшлункової залози [4]. Дослідження останніх років виявили в крові 100 % дітей з цукровим діабетом

1-го типу імунні тіла до бичачого сироваткового білку. Крім того, білок коров'ячого молока (*β*-казеїн) має деякі спільні ознаки з будовою клітин підшлункової залози, що виробляють інсулін. Тому якщо в крові людини з'являються антитіла до даного білка, вони можуть руйнувати не тільки сам казеїн, а й *β*-клітини [5].

- Поштовхом для аутоімунних реакцій можуть бути й є *генетичні (вроджені) передумови.* Імовірність виникнення діабету цього типу в дітей, батьки яких (один або обоє) мають цю недугу, статистично вірогідно більша [4].
- *Нервовий стрес.* Особливо слід уникати нервового та емоційного перенапруження особам із спадковою схильністю до цукрового діабету [3].
- *Незбалансоване харчування.*
- *Токсичні речовини*, які можуть руйнувати *β*-клітини, наприклад: *нітрозаміни* – що часто знаходяться в копчених та ковбасних виробах[2]; *алоксан* – речовина, що здатна викликати вибірковий некроз *β*-клітин острівців підшлункової залози; *стрептозотоцин* – антибіотик, що також здатен селективно руйнувати *β*-клітини; *дитізон* – введення даного препарату тваринам, спричиняє порушення депонування та секреції інсуліну [6]; *пестициди, нітрати, тяжкі метали* та ін).
- Тяжкий гострий панкреатит або травма підшлункової залози [5].

Серед факторів ризику розвитку цукрового діабету ІІ типу - цукрового діабету, на який на сьогодні хворіє близько 90 % людей, найзначущими є ожиріння та фізична інертність. Симптоми цукрового діабету ІІ типу можуть бути схожими із симптомами діабету І типу, але найчастіше є менш вираженими [7].

Основні фактори ризику наведено нижче:

- вік понад 40 років;
- надмірна маса тіла й ожиріння;
- переїдання [3];
- низька фізична активність [5];
- патологія вагітності (плід масою понад 4 кг, природжені вродженості плоду, мертвонародження [3], вага при народженні менше 2,3 кг [5]);

- виражений атеросклероз, гіпертонічна хвороба, інфаркт міокарду, порушення мозкового кровообігу;
- епізодичні гіперглікемії та глюкозурії, що виявлені під час стресових ситуацій (операцій, травм тощо) [3];
- ендокринні захворювання: гіпо- та гіпертіреоз (порушення роботи щитовидної залози), підвищена функція кори наднирників [5];
- хронічні захворювання печінки, підшлункової залози, нирок; пародонтоз, фурункульоз;
- тривале вживання медикаментів (глюкокортикоїдів, тіазидних діуретиків, гіпотензивних препаратів, оральних контрацептивів тощо) [3].

Розвиток вищенаведених факторів здатен спричинити цукровий діабет обох типів та в подальшому ініціювати ускладнення. До них належать нейропатія, мікро- та макроангіопатії. На сьогодні, для запобігання розвитку ускладнень широко використовують наступні засоби: 1) дієто- та цукрознижувальну терапію; 2) прийом лікарських засобів різних фармакологічних груп; 3) фізіотерапевтичні методи; 4) санаторно-курортне лікування; 5) лікувальну фізкультуру; 6) фітотерапію; 7) ентеросорбцію; 8) голкорефлексотерапію та ін [3]. Проте всі ці методи є досить давніми, тому доцільно проводити пошук та дослідження нових дієвих засобів лікування та профілактики цукрового діабету.

Список літератури

1. Посохова К.А., Стечишин І.П., Підгірний В.В. Вплив кварцетиновмісних сполук на стан міокарда при цукровому діабеті 2 типу / К.А. Посохова, І.П. Стечишин, В.В. Підгірний // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2014. – № 2. – С. 17-21

2. Scobie Ian N Atlas of Diabetes Mellitus. 6-th edition. Informa Healthcare / Ian N Scobie. – Abington, Oxon. – 2013.

3. Кузишин О.В., Ковалишин Н.В., Алмашина Х.В. Біохемія цукрового діабету / О.В. Кузишин, Н.В. Ковалишин, Х.В. Алмашина // Медична хемія. – 2010. – № 10. – С. 74-115.

4. Фадєєв П.О. Цукровий діабет / П.О. Фадєєв. – Тернопіль: Навчальна книга Богдан. – 2011. – 168 с.

5. Карамышева Т.Е. Диабет. Как правильно снизить дозы лекарств / Т.Е. Карамышева. – Москва : Эксмо. – 2015. — 224 с.

6. Грицюк М.І., Бойчук Т.М., Петришен О.І. Порівняльна характеристика експериментальних моделей цукрового діабету / М.І. Грицюк, Т.М. Бойчук, О.І. Петришен // Світ медицини та біології. – 2014. – № 2 (44). – С. 199-203.

7. Галицкая В.В. Болезнь цивилизации: сахарный диабет / В.В. Галицкая // Природна медицина. – 2014. – № 1. – С. 53-54.

ПОРІВНЯННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ РОСЛИН, КУЛЬТИВОВАНИХ В УМОВАХ *IN VITRO* ТА *IN VIVO*, НА ПРИКЛАДІ ЕНДІВІЮ САЛАТНОГО, ЕНДІВІЮ ЛИСТОВОГО, БУРАЧНИКА ЛІКАРСЬКОГО

Ярослав Заплатніков

Київський палац дітей та юнацтва, м.Київ, Україна

Анотація. Робота присвячена порівнянню антимікробної активності ендівію салатного (*Cichorium endivia* L.) ендівію листового (*Cichorium folium* L.) та бурачника лікарського (*Borago officinalis* L.), культивованих *in vitro* та *in vivo*, відносно грампозитивних *(Bacilla sp., Sarcina sp.)* та грамнегативних мікроорганізмів *(Serratia marcescens, Agrobacterium rhyzogenes, Escherichia coli)*. В ході роботи виявлені ймовірні привілеї вирощування асептичних рослин на культурі *in vitro* для поліпшення прояву антимікробної активності на прикладі рослин ендівію.

Ключові слова: Антимікробна активність, лікарські рослини, *Cichorium endivia* L., *Cichorium folium*., *Borago officinalis L.*, *in vivo*, *in vitro*.

Вступ. З давніх часів люди використовують вищі рослини в лікувальних цілях: для загоєння ран, підвищення імунітету, санітарно-гігієнічних показників повітряного середовища. Відомо, що тільки в 20 столітті вченим Б.П Токіним було науково підтверджено користь рослин та з’ясовано завдяки яким біологічно активним речовинам рослина здатна проявляти лікувальні властивості, негативно впливати на патогенну та умовно патогенну мікрофлору повітря. Такі речовини були названі фітонцидами. Невдовзі з’ясувалося, що вдихання фітонцидів деяких видів благотворно діє на психіку, нормалізує сердечний ритм, покращує процеси обміну речовин [1].

Як відомо, значна кількість штамів мікроорганізмів виробили резистентність відносно багатьох сучасних лікарських засобів, що робить

пошук нових препаратів з антимікробною активністю одним із важливих завдань сучасної медицини. Саме тому сьогодні актуальності набуває дослідження нової рослинної сировини, що має біологічну активність. Варто зазначити, що мікроорганізми при тривалому контакті з продуктами життєдіяльності рослин (зокрема, летючими сполуками) не набувають до них стійкості. Це надає їм переваг у порівнянні з іншими сполуками з антимікробною дією, зокрема антибіотиками.

Відомо, що антимікробну активність щодо певних мікроорганізмів мають багато видів лікарських рослин. Наприклад, фітонциди цибулі ріпчастої (*Allium cepa* L.) та часнику (*Állium satívum* L.) значно пригнічують розвиток туберкульозної (*Mycobactérium tuberculósi)*, кишкової (*E. coli*), черевнотифознуої палички (*Salmonella typhi*), стафілокок, стрептокок. А от каланхое (*Kalanchoë*) тільки пригнічує ріст такого виду простіших як інфузорія туфелька (*Paramecium caudatum*) [2]. Цей список можуть доповнити такі види рослин як Бурачник лікарський (*Borago officinalis L.*), *C. endivia* (листкового та сорту «Очаг»). Крім того, бракує літературних даних щодо антимікробної активності цих рослин, культивованих *in vitro*, а також порівняння із активністю цих же рослин, вирощених *in vivo*.

Враховуючи вище зазначене, метою роботи було порівняння антимікробної активності рослин ендівію салатного (*Cichorium endivia* L.) ендівію листового (*Cichorium folium* L.) та бурачника лікарського (*Borago officinalis* L.), культивованих *in vitro* та *in vivo*, відносно грампозитивних *(Bacilla sp., Sarcina sp.)* та грамнегативних мікроорганізмів (*Serratia marcescens, Agrobacterium rhyzogenes, Escherichia coli*).

Матеріали і методи дослідження. Для досліджень використовували асептичні рослини *C. endivia* L., *C. folium* L. та *Borago officinalis* L., а також ці ж види рослин, вирощені *in vivo*. Рослини було введено в культуру методом поверхневої стерилізації насіння. Для цього спочатку насіння рослин було оброблено 70% розчином етилового спирту протягом 30 секунд, потім

витримано у 25% розчині комерційного препарату «Domestos» (5% гіпохлорид натрію,поверхнево активні речовини). Через 10 хвилин насіння тричі по 10 хвилин промивали стерильною дистильованою водою. Після стерилізації насіння культивували на агаризованому безгормональному середовищі Мурасиге та Скуга (МС) протягом 7 діб при температурі 26 °С . Досліджувані рослини бурачнику, ендівію листкового та ендівію салатного паралельно вирощували в умовах *in vivo* протягом двох тижнів без домішок та мінеральних добрив (рис. 1).

Рис. 1. Рослини ендівію листкового (А) та ендівію сорту «Очаг» (Б)

Після 19 діб культивування з рослин були отримані етанольні екстракти. Для цього експериментальні рослини гомогенізували у фарфоровій ступці з поступовим додаванням 96% спирту. Після цього екстракти фільтували та переносили фільтрат у пробірки та зберігали у морозильній камері протягом 5 діб при температурі -12 °С.

Визначення антимікробної активності проводили на тест-культурах мікроорганізмів: грампозитивних *Bacilla sp., Sarcina sp.* та грамнегативних *Serratia marcescens, Agrobacterium rhyzogenes, Escherichia coli.* Отримання добових культур мікроорганізмів здійснювали на щільному поживному середовищі LB (Luria-Bertani medium, Merck, Germany) (Миллер, 1976). Приготування робочих суспензій мікроорганізмів проводили у рідкому

середовищі LB. Антимікробну активність визначали за допомогою методу паперових дисків.

Результати і обговорення. Асептичні рослини ендівію салатного (*Cichorium endivia L.*), та ендівію листового (*Cichorium folium*) було отримано шляхом поверхневої стерилізації насіння. Проростання отриманого у такий спосіб насіння відбувалось на 5-7 добу вирощування на агаризованому середовищі МС без додавання регуляторів росту. Бурачник лікарський не вдалося ввести в культуру *in vitro*, через зморшкувату поверхню насінин та, як наслідок, значну кількість мікроорганізмів на цій поверхні. Тому антимікробну активність цього виду визначали лише у рослин, вирощених *in vivo.*

Результати досліджень показали, що антимікробну активність проти таких мікроорганізмів як *Agrobacterium rhizogenes, Escherichia coli, Sarcina sp.* мають екстракти таких рослин як Ендівій листовий (*Cichorium folium*.), вирощених *in vitro* та *in vivo* (рис 2).

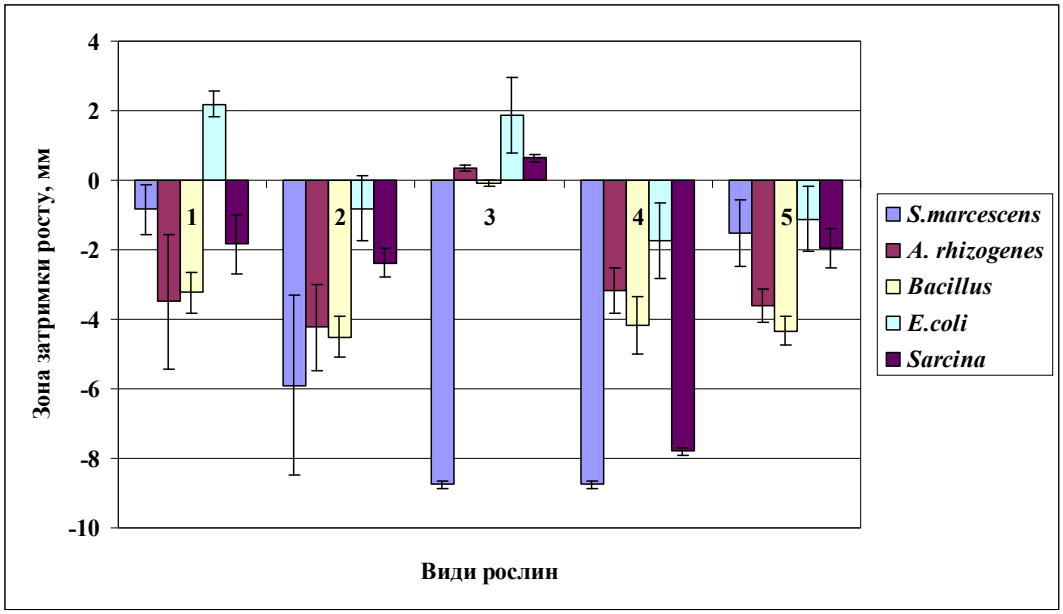


Рис. 2. Антимікробна активність етанольних екстрактів рослин: 1 - Ендівій листовий (*Cichorium folium*.) *in vitro*, 2 - Ендівій листовий (*Cichorium folium*.) *in vivo*, 3 - Ендівій салатний (*Cichorium endivia* L.) *in vitro*, 4 - Ендівій салатний (*Cichorium endivia* L.) *in vivo*, 5 – Бурачник лікарський (*Borago officinalis L.*) *in vivo* .

Як видно з рисунку 2, екстракти досліджуваних рослин мають різний вплив на ріст тест-культур мікроорганізмів, зокрема, антимікробну активність проявили екстракти рослин *Cichorium folium*, культивованих *in vitro*, проти умовно патогенного мікроорганізму *E.coli* (зона затримки росту складала 2,18±0,38 мм). Разом з тим, екстракт цього ж виду рослин, вирощених *in vivo*, пригнічував ріст трьох досліджуваних мікроорганізмів - *Agrobacterium rhizogenes, Escherichia coli, Sarcina sp.* (зона затримки росту складала 0,33±0,09, 1,86±1,10 та 0,63±0,1 мм відповідно). Отже, існують незначні відмінності в антимікробній активності рослин *Cichorium folium*, вирощених *in vitro* та *in vivo*, проти умовно патогенного мікроорганізму *Escherichia coli* (рис. 3). Стосовно антимікробної активності екстракту цього виду рослин проти *Agrobacterium rhizogenes* та *Sarcina sp.* однозначно сказати поки що не можна, оскільки отримані показники активності є достатньо низькими та потребують додаткового уточнення.

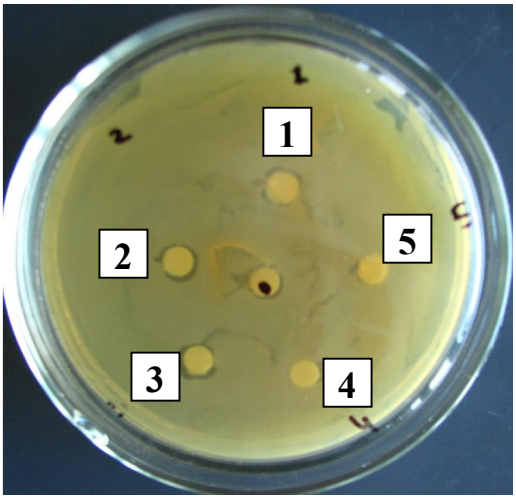


Рис. 3. Антимікробна активність етанольних екстрактів рослин проти *Escherichia coli*: 1 - Ендівій листовий (*Cichorium folium*.) *in vitro*, 2 - Ендівій листовий (*Cichorium folium*.) *in vivo*, 3 - Ендівій салатний (*Cichorium endivia* L.) *in vitro*, 4 - Ендівій салатний (*Cichorium endivia* L.) *in vivo*, 5 – Бурачник лікарський (*Borago officinalis L.*) *in vivo*

Результати дослідження антимікробної активності екстрактів рослин *Cichorium endivia* та *Borago officinalis* показали, що даної активності проти таких мікроорганізмів як *Bacilla sp., Sarcina sp., Serratia marcescens, Agrobacterium rhyzogenes, Escherichia coli* досліджувані екстракти не проявляли.

Висновки. Таким чином**,** антимікробну активність проявили екстракти рослин *Cichorium folium*, культивованих *in vitro* та *in vivo*, проти умовно патогенного мікроорганізму *E.coli*. Проте відмінності між активністю екстрактів з рослин, вирощених в різних умовах є незначними. Разом з тим, антимікробної активності екстрактів рослин *Cichorium endivia* та *Borago officinalis* проти таких мікроорганізмів як *Bacilla sp., Sarcina sp., Serratia marcescens, Agrobacterium rhyzogenes, Escherichia coli* не виявлено.

Список літератури

1. http://www.beebehavior.com/phytoncides.php

2. Токин Б. П. Целебные яды растений. Повесть о фитонцидах. Изд. 3-е, испр. и доп.— Лл Изд-во Ленингр. ун-та, 1980.— 280 с. Ил.— 67, библиогр.— 31

3. Hetko.2014. «Фітонцидна активність оранжерейних рослин» *Buxus sempervirens* L. cv. Suffruticosa, *Myrtus communis* L., *Ochrosia elliptica* Labill., *Psidium cattleianum*.-2014.-стор.1-2.

4. Б. П.Токин. «Бактерициды растительного происхождения (фитонциды), Медгиз 1942. - Стр.3

5. http://www.poleznenko.ru/chem-polezen-endivij.html

6. Chen C.J., A.J. Deng, C.Liu, Shi R., Qin H.L., Wang A.P. Hepatoprotective activity of *Cichorium endivia* L. extract and its chemical constituents // Molecules. – 2011. – Vol. 16, № 11. – P. 9049-9066.

7. Alshehri A., Elsayed H. E. Molecular and biochemical evaluation of antiproliferative effect of (*Cichorium endivia* L.) phenolic extracts on breast cancer cell line: MCF7 E3 // Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research. – 2012. - Vol. 3, № 4. - P. 74-82.

8. Kang H. W. Antioxidative activity of extracts from *Cichorium endivia* L. // J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. – 2012. – Vol. 41, № 11. - P. 1487-1492

9. Koudela M., Petříková K. Nutritional composition and yield of endive cultivars – *Cichorium endivia* L. // Hort. Sci. (Prague). - 2007. - Vol. 34, № 1. - P. 6–10.

10. А.Г. Тирков, Л.Т. Сухенко, Е.Р. Акмаїв «Антимікробна активність ефірних масел виділених із рослин Астраханського регіону»// Вісник Алтайського державного аграрного університету. Вип.2. – 2012. – Т.88. – С. 23-27.

11. http://www.activestudy.info/baktericidnye-svojstva-letuchix-fitoncidov-drevesno-kustarnikovyx-porod/ © Зооінженерний факультет МСХА

12. С.С. Ляшенко, О.Н. Денисенко «Оценка перспективности использования бурячника лекарственного с точки зрения его экологической чистоты и возможности введения в культуру»// Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - т. 12, № 1(8). - 2010. – С. 1-2.

МІКРОБНА *L*-АСПАРАГІНАЗА У ЛІКУВАННІ ГОСТРОГО ЛІМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗУ

Анастасія Заяць, Марія Антонюк

Національний університет харчових технологій, м.Київ

Abstract. For the treatment of malignant diseases of the lymphatic system, such as acute lymphoblastic leukemia using microbial L-asparaginase, which is a chemotherapy drug. Modern biotechnologists problem is the selection of producers of *L*-asparaginase, which would have had glutaminase activity.

Keywords: *L*-asparaginase, acute lymphoblastic leukemia, *Pectobacterium carotovorum.*

Вступ. Основні напрями розвитку біотехнології охоплюють широке коло задач, в тому числі одержання біологічно активних речовин для сучасної медичної галузі. На сьогодні гостро стоїть питання лікування гострого лімфобласного лейкозу, оскільки сучасні препарати виявляють побічні дії.

Результати та обговорення. Гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ) займає провідне місце в структурі онкогематологічної патології в дитячому і підлітковому віці. На його частку припадає до 28% всіх злоякісних захворювань і до 70 % всіх лейкемій [1]. Цей вид раку зустрічається у людей різного віку, в тому числі й у дорослих. Однак найчастіше хворіють діти до 5 років [2].

Основу лікування лейкозу становить поліхіміотерапія, спрямована на повну ерадикацію лейкозного клону. Протоколи лікування, що використовуються при ГЛЛ, різняться комбінацією хіміопрепаратів, їх дозами та способами введення. Одним із таких препаратів є *L*-аспарагіназа [3]. Протягом останніх 30 років *L*-аспарагіназу поряд з вінкристином, преднізолоном і препаратами антрациклінового ряду відносять до стандартної індукційної терапії хворих на ГЛЛ. Використання цього препарату на етапах

індукції та консолідації ремісії дозволило значно поліпшити безпосередні результати терапії, а також показники віддаленої виживаності в різних вікових групах [4].

Механізм дії *L*-аспарагінази заснований на відмінності метаболізму між здоровими і пухлинними клітинами (Рис 1.1). Нормальні клітини можуть самостійно синтезувати безліч амінокислот, включаючи аспарагін, в той час як лейкозні не здатні самостійно синтезувати аспарагін, але потребують значного його надходження для пластичних процесів і забезпечення власної життєдіяльності.

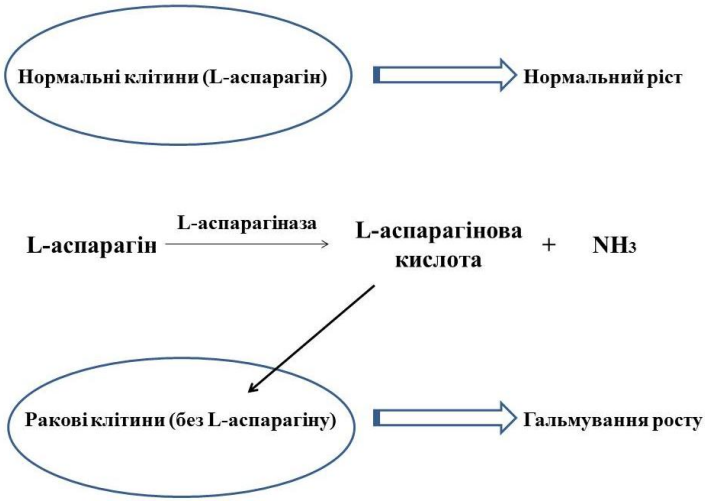


Рис 1. Схематична діаграма інгібування росту пухлинних клітин L-аспарагіназою [5].

Дія *L*-аспарагінази здійснюється в сироватці крові, де вона гідролізує аспарагін до аспарагінової кислоти і амонійної групи, позбавляючи лейкемічні клітини надходження аспарагіну. При відсутності аспарагіну синтез білка, що залежить від нього, зупиняється. Це призводить в подальшому до інгібування синтезу нуклеїнових кислот і зниження ступеня лейкемічної проліферації [6].

Здатністю продукувати L-аспарагіназу володіють як гризуни, примати, рослини так і мікроорганізми, а саме *Esherichia coli, Erwinia aroideae, Erwinia chrysanthemi, Pectobacterium carotovorum, Pseudomonas aeruginosa, Aspergillus*

terreus та ін. [7]. На сьогодні у клінічній практиці широко використовують *L*-аспарагінази саме з *E. chrysanthemi*, *E. coli* та *P. carotovorum* [8].

Аспарагінази, що секретуються мікроорганізмами зазвичай володіють набагато більшою спорідненістю з аспарагіном, ніж цитоплазматичні (через необхідність мати в цитоплазмі певну кількість аспарагіну для синтезу білка). Відомі 2 типи бактеріальних *L*-аспарагіназ: цитоплазматична *L*-аспарагіназа I типу з високим $К_m$ по відношенню до *L*-аспарагіну, що активно розщеплює *L*-глутамін, і периплазматична *L*-аспарагіназа II типу з низьким $К_m$ по відношенню до *L*-аспарагіну і дуже низькою активністю по відношенню до *L*-глутаміну, саме її використовують для лікування ГЛЛ [9].

L-аспарагіназа може бути як екзогенна, так і ендогенна, однак в більшості мікроорганізмів, *L*-аспарагіназа накопичується внутрішньоклітинно. Розглянемо порівняльну таблицю субклітинного розподілення *L*-аспарагінази у деяких мікроорганізмів (табл.1).

Згідно таблиці найбільша активність аспарагінази спостерігалася у цитоплазмі *Serratia marcescens* NCIM 2919, проте, глутаміназна активність цієї аспарагінази становить найбільше з усіх представлених штамів – 8,9 %. У той час як аспарагіназа із *P. carotovorum* MTCC 1428 зовсім не виявляє глутаміназної активності. Це особливо важливо, оскільки глутаміназна активність у лікувальних препаратах *L*-аспарагінази викликає побічні ефекти, зокрема захворювання печінки, гострий панкреатит, гіперглікемію та імуносупресії у хворих, які ними лікуються. Вимірювання цитотоксичності при лікуванні лейкемії показали, що *L*-аспарагіназа із *P. carotovorum* в 30 раз менш токсична, ніж з *E. coli* [2].

L-аспарагіназа з *P. carotovorum* була клонована і успішно експресована в різні бактеріальні та дріжджові системи такі як *E. crysanthemi, E. coli* та *S.cerevisiae*. Дослідники упродовж багатьох років намагалися знайти нові джерела цього ферменту, у тому числі рекомбінантні штами. Такі ферменти були зареєстровані протягом багатьох років як ефективні препарати в лікуванні гострого лімфобластного лейкозу. Проте їх побічними ефектами були анафілактичний шок, діабет, лейкопенія, неврологічні судоми і коагуляція

відхилень від норми та інше. Тому досі актуальним є питання пошуку джерела вільної від глутаміназної активності аспарагінази. Аспарагіназа, що не має глутаміназної активності вважається майбутнім протиракової терапії.

Таблиця 1. Субклітинне розподілення L-аспарагінази в різних штамів мікроорганізмів [3]

Штам	Субстрат	Клітинна біомаса, г/л	Аспарагіназна активність, од/мл			Питома активність аспарагінази, од/мг			L-глутаміназна (%, цитоплазматична відносна активність)
			Цитоплазматична	Периплазматична	Мембранзв'язна	Цитоплазматична	Периплазматична	Мембранзв'язна	
Serratia marcescens NCIM 2919	Глюкоза	0,52	2,83	1,23	0,87	7,25	3,81	5,96	7,68
	Глюкоза+L-аспарагін	0,5	12,05	1,14	1,48	31,45	3,64	10,2	7,89
	L-аспарагін	0,58	14,07	0,74	0,58	33,73	2,11	3,64	8,9
Serratia marcescens MTCC 97	Глюкоза	0,46	2,87	0,92	0,74	8,36	2,94	5,62	8,12
	Глюкоза+L-аспарагін	0,42	10,09	0,76	1,19	30,57	2,52	8,35	6,45
	L-аспарагін	0,6	11,81	1,23	1,04	28,13	2,99	4,81	7,7
P. carotovorum MTCC 1428	Глюкоза	0,53	1,25	1,34	0,41	3,35	4,30	2,66	0
	Глюкоза+L-аспарагін	0,78	9,63	1,32	0,49	21,60	3,61	2,86	0
	L-аспарагін	0,76	10,69	0,71	0,38	22,45	1,65	2,29	0
Wautersia eutropha NRRL B-2804	Глюкоза	0,36	2,4	1,59	0,88	7,48	5,41	5,97	2,16
	Глюкоза+L-аспарагін	0,44	6,24	1,24	1,39	18,29	3,63	8,42	2,42
	L-аспарагін	0,55	5,02	0,62	0,48	15,36	1,99	4,3	1,67

Дослідники вважають, що найкращим виходом із проблеми є статистичні підходи до оптимізації складу поживного середовища для розширення виробництва *L*-аспарагінази із *P. carotovorum* [10]. Проведення ряду досліджень допомогло оптимізувати компоненти середовища і безпосередньо самого процесу для максимізації виробництва *L*-аспарагінази *P. carotovorum.* За таких умов її активність становила 38,8 од/мл або 37,6 од/мг. Так було досліджено, що для більшої активності ферменту процес культивування потрібно проводити періодично з підживленням культури *L*-аспарагіном 30 г/л після 12 год вирощування. Загальна тривалість культивування становить 24 год. Також було підібрано оптимальні pH – 8,5 та аерацію – 1,5 л на л середовища. Поживне середовище для культивування має наступний склад (г/л): глюкоза – 2,1; *L*-аспарагін – 5,2; $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ – 6,0; KH_2PO_4 – 1,77; NaCl – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,37; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0,015; дріжджовий екстракт – 1,0; пептон – 1,0 [10].

Висновок. Отже, використання фітопатогенних бактерій *P. carotovorum* для одержання аспарагінази у якості протипухлинного лікарського препарату є перспективою для боротьби із серйозною проблемою людства XXI ст.

Список літератури

1. *Stanulla M., Schrappe M.* Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia //Seminars in hematology. – WB Saunders, 2009. – Т. 46. – №. 1. – P. 52-63.

2. *Пшонкин А.В., Румянцева Ю.В., Литвинов Д.В*. и др. Лечение острого лимфобластного лейкоза у подростков и молодых взрослых: опыт Москва-Берлин // РЖДГиО. – 2016. – №1. – С. 35-43.

3. *Kumar S., Dasu V. V., Pakshirajan K.* Localization and production of novel L-asparaginase from *Pectobacterium carotovorum* MTCC 1428 //Process Biochemistry. – 2010. – Т. 45. – №. 2. – P. 223-229.

4. *Баранова О. Ю.* Онкаспар в лечении острого лимфобластного лейкоза // Клиническая онкогематология. – 2008. – №3 – С.227-232.

5. *Zuo S. et al.* Recent research progress on microbial L-asparaginases //Applied microbiology and biotechnology. – 2015. – Т. 99. – №. 3. – P. 1069-1079.

6. *Маякова С.А., Немировченко В.С., Попа А.В.* Проект «Клинические рекомендации по диагностике и лечению детей, больных острыми лейкозами» // Общероссийский союз общественных объединений ассоциация онкологов Росии. – Москва, 2014. – 9 с.

7. *Ramya L. N.* et al. *In silico* engineering of L-asparaginase to have reduced glutaminase side activity for effective treatment of acute lymphoblastic leukemia //J. of pediatric hematology/oncology. – 2011. – Т. 33. – №. 8. – P. 617-621.

8. *Kumar S., Dasu V. V., Pakshirajan K.* Purification and characterization of glutaminase-free L-asparaginase from *Pectobacterium carotovorum* MTCC 1428 //Bioresource technology. – 2011. – Т. 102. – №. 2. – P. 2077-2082.

9. *Абакумова О. Ю. и др.* Противоопухолевая активность l-аспарагиназы для клеток различных лейкемий человека и солидных опухолей человека и животных //Биомедицинская химия. – 2013. – Т. 59. – №. 5. – С. 498-513.

10. *Kumar S. et al.* Batch and fed batch bioreactor studies for the enhanced production of glutaminase-free L-asparaginase from *Pectobacterium carotovorum* MTCC 1428 //Preparative Biochemistry and Biotechnology. – 2016. – №. just-accepted.

ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ СУЧАСНИХ ФІЛЬТРУЮЧИХ ЕЛЕМЕНТІВ У ВИРОБНИЦТВІ АНТИБІОТИЧНОЇ РЕЧОВИНИ ПІОЦИАНІНУ БІОТЕХНОЛОГІЧНИМ МЕТОДОМ

Ольга Калюжная, Олена Івахненко, Леонід Стрельников

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Олексій Калюжний

Харківський національний технічний університет сільського господарства ім. Петра Василенка, м. Харків, Україна

Abstract. The results of the study of the possibility of applying PTFE filter element in the production of antibiotic substances pyocyanin produced by the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* during its natural life are shown in this work. Based on identifying and comparing the number of producer cells in culture fluid for filtration and after a series of filtrations through teflon material and determine the effect of the thickness of the filter at the efficiency of filtering are shown the promise of using this type of filter elements in the production of pyocyanin.

Keywords: Teflon filter elements, antibiotic substance pyocyanin

Вступ. На біотехнологічних виробництвах зустрічається чимало процесів, що призводять до утворення неоднорідних сумішей, які потім потребують розділення, у тому числі й фільтрацією [6, 7].

Найважливішим елементом фільтра є фільтруючий матеріал, який і визначає якість фільтрації та продуктивність апарату. Фільтруючий матеріал служить пористою основою фільтра, яка в процесі фільтрації суспензії пропускає дисперсійне середовище і затримує дисперсну фазу, розділяючи основні продукти фільтрації. Роль фільтруючого матеріалу особливо велика у початковий період фільтрації, коли йде відкладення перших шарів осаду. У подальшому формується осад, який приймає на себе основні функції пористої

основи фільтра, що служить опорою для цього осаду і запобігає виносу дисперсних фракцій з осаду в збірники для фільтрату [1].

Фільтруючий матеріал надає гідравлічний опір фільтраційному потоку, зі збільшенням якого при засміченні пористої основи істотно знижується продуктивність фільтра. Властивості фільтруючого матеріалу повинні відповідати характеру фільтрованої суспензії. Неправильно підібраний матеріал, що фільтрує, знижує техніко-економічні показники роботи фільтра [3, 5, 6].

Політетрафторетиленом або фторопластом називаються полімер тетрафторетилену, який отримують хімічним шляхом. Даний матеріал містить велику кількість атомів фтору, тому відрізняється унікальними хімічними і фізичними властивостями. Він широко застосовується в побуті (посуд з антипригарним покриттям), електротехнічній (електроізоляційні матеріали, теплостійкі прокладки), харчовій промисловості (фторопластові труби). Варто відзначити, що фторопласт практично не розчиняється у більшості органічних розчинників [4, 5].

Серед головних характеристик матеріалу слід виділити широкий діапазон механічних та діелектричних властивостей, високий рівень електричної міцності і низький коефіцієнт тертя, зносу. Отже, фторопласт володіє винятковою хімічною інертністю щодо більшості агресивних середовищ. Також політетрафторетилен має високу стійкість до корозії, атмосферних і радіаційних впливів, слабку газопроникність, властивість до самозатухання у разі займання; нагрівостійкість матеріалу досягає 300 °С.

Високі регенеруючі властивості фільтроелементів на основі фторопласту та їх висока продуктивність обґрунтували вибір даного виробу в якості об’єкту досліджень з метою пошуку шляхів використання у біотехнологічних процесах.

Метою роботи є визначення можливості використання фторопластових фільтруючих елементів у виробництві антибіотичної субстанції піоцианіну біотехнологічним методом.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктами дослідження є продуцент антибіотичної субстанції піоцианіну *Pseudomonas aeruginosa* [9] та фторопластові фільтруючі елементи типа ФЕП (фільтруючі елементи пористі) (вид – диск; діаметр – 90 мм; висота – 4 мм, 6 мм; тонкість фільтрації – 1 мкм, 5 мкм), надані за договором про наукову співпрацю із кафедрою технології матеріалів ННІ Технічного сервісу Харківського національного технічного університету сільського господарства ім. Петра Василенка. Культивуючи *P. aeruginosa* отримували культуральну рідину із піоцианіном, що використовувалась як модельний зразок для фільтрації [8].

Перед початком досліджень з наданих дисків вирізали диск меншого діаметру, який дорівнює внутрішньому діаметру шприца 20 мл трьохкомпонентного виконання; нижню частину шприца (із місцем для приєднання голки) відрізали; натомість вклеювали підготовлений диск. Для дотримання правил асептики шприц із вклеєним диском обробляли спиртом, потім УФ-опромінювачем та зберігали у герметичному контейнері.

Вивчення можливості застосування фільтруючих елементів на основі фторопластів базувалося на проведенні процесу фільтрації культуральної рідини продуцента за різних умов та підрахунку кількості клітин до і після серії фільтрацій із використанням фільтроелементів різної товщини. При цьому постійно проводили контроль у фільтраті наявності саме клітин продуцента та відсутності сторонніх мікроорганізмів класичними мікробіологічними методами (диференційно-діагностичним, методом серійних розведень у рідкому живильному середовищі, методом Коха).

Результати і обговорення. У попередньому повідомленні [2] визначення ефективності фільтрації культуральної рідини *P. aeruginosa* крізь фторопластові фільтри показало значно меншу кількість клітин у фільтраті із збереженням проникності фільтроелементу після серії фільтрацій.

Цікавим для нас було також дослідити фільтрацію утвореного фільтрату крізь новий фільтр, тобто в даному випадку початковою концентрацією була кількість клітин у попередньо отриманому фільтраті. Результати даної серії фільтрацій наведені у таблиці 1.

*Таблиця 1. Кількість клітин P. aeruginosa до та після фільтрації попередньо отриманого фільтрату**

№ досліду**	Кількість клітин, КУО***/мл	
	До фільтрації****	Після фільтрації
1	117±3	93±1
2	101±1	91±4
3	108±5	112±5
4	102±3	92±4
5	96±7	90±2
6	100±9	93±2
7	108±10	99±1
8	95±8	91±6
9	10±1	10±1
10	10±1	9±1

Примітки: (M±m) – довірчий інтервал, n = 5;

* – тонкість фільтрації 1 мкм, товщина h = 6 мм, площа фільтруючого елемента (із зневагою «мертвого» простору, що утворився від суперклею на межі шприцу та фільтруючого елементу), d = 19 мм;

** – в кожному досліді використовували новий «свіжий» фільтрувальний елемент;

*** – колонієутворюючі одиниці (визначали, як середньоарифметичне значення для 3-х паралельних чашок);

**** – кількість клітин у фільтрі, що був отриманий у попередній серії експериментів [2].

Результати таблиці 1 показують, що при невеликій концентрації клітин у рідині (порядок 10^2 КУО), що фільтрується, відділення клітин від культуральної рідини не відбувається. Це може бути пов’язане із двома фактами: по-перше,

при такій низькій концентрації не утворюється додаткового фільтруючого шару, який був би додатковою «просторовою» перепоною для проходження клітин; по-друге, розміри клітин *P. aeruginosa* варіюють від (1-5) × (0,5-1,0) мкм і крізь фільтр при першому фільтруванні у фільтрат потрапили саме вони, тому й при фільтруванні крізь новий фільтр, не зустрівши ніякої перепони у вигляді додаткового шару, вони знов «пройшли» крізь пори фільтру.

За даними літератури відомо, що на проникність фільтроелементу також впливає його товщина: теоретично фільтроелемент більшої товщини буде мати більшу поверхню пор, а при доказі певного діаметру, що гарантує та за що відповідає виробник, це обумовлює більшу довжину пор, звідки й кращі «затримувальні» властивості таких фільтрів.

Тому, наступним етапом роботи було визначення впливу товщини фільтруючого елементу на ефективність фільтрації.

У попередніх дослідах використовували пористий фільтруючий елемент на основі фторопласту товщиною h = 6 мм. У таблиці 2 наведені результати для фільтрації крізь диски товщиною 6 та 4 мм.

Таблиця 2. Кількість клітин P. aeruginosa у фільтраті після фільтрацій з використанням фільтрів різної товщини

Кількість процесів фільтрації, що проведені крізь один і той же самий фільтр	Кількість клітин, КУО**/мл	
	Pseudomonas aeruginosa ***	
	Товщина фільтру h=6 мм*	Товщина фільтру h=4 мм
1	117±3	$(98±7)×10^3$
5	96±7	$(101±13)×10^3$
10	10±1	$(94±8)×10^3$

Примітки: (M±m) – довірчий інтервал, n = 5;

* – результати попередньої серії експериментів;

** – контроль дорівнює 10^9 КУО/мл;

*** – тонкість фільтрації – 1,0 мкм.

Стосовно фільтрації *P. aeruginosa* спостерігається суттєве збільшення концентрації клітин у фільтраті (щонайменше у тисячі разів), що свідчить про зниження ефективності фільтрації із зменшенням товщини фільтру. Також, у випадку використання фільтру з меншою товщиною із збільшенням кількості процесів фільтрації проникність фільтроелемента зменшується на відміну від використання фільтрів з більшою товщиною.

Таким чином бачимо, що товщина фільтруючого елементу суттєво впливає на ефективність фільтрації.

Висновки. Таким чином, узагальнюючи результати проведеної роботи, можна стверджувати, що піоцианін, який продукується бактерією *P. aeruginosa*, є перспективною антибіотичною субстанцією, а сам мікроорганізм є можливим продуцентом для біотехнологічного отримання субстанції. Слід відмітити, що у процесі виробництва важливими стадіями є відділення культуральної рідини від продуцента і видалення піоцианіну, при проведенні яких можна використовувати фторопластові фільтрувальні елементи, але використання даного типу фільтруючих елементів у промислових масштабах потребує подальших досліджень.

Список літератури

1. *Жужиков В. А.* Фильтрование: Теория и практика разделения суспензий / В. А. Жужикова. – М.: Химия. – 1980. – 400 с.

2. *Калюжная О. С.* Перспективність застосування сучасних фільтруючих елементів у виробництві антибіотичної речовини піоцианіну біотехнологічним методом. Повідомлення 1 / О. С. Калюжная, О. Л. Івахненко, О. П. Стрілець // Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: збірник наукових праць. – Х.: Вид-во НФаУ, 2016. – С. 285 – 289.

3. *Калюжный А. Б.* Распределение проницаемости поровых каналов по их диаметрам в фильтрующих материалах: Сб. науч. тр. / А. Б. Калюжный, В. Я. Платков. - Харьков: ХГТУСХ, 2000. - С. 234-239.

4. *Калюжный А. Б.* Установка для очистки и обезвоживания дизельного топлива полимерными фильтрующими элементами на основе фторопласта-4 / А. Б. Калюжный, Б. Г. Калюжный, В. Я. Платков // Вісник ХНТУСГ ім. П. Василенка, Вип. 146, 2014. - С. 192 - 197.

5. *Калюжный А. Б.* Формирование структуры и свойств высокопористых материалов на основе фторопласта-4 / А. Б. Калюжный, В. Я. Платков // Тр. Междунар. конф. «XIV Петербургские чтения по проблемам прочности» - Санкт-Петербург, 2003. - С. 233.

6. *Касаткин А. Г.* Основные процессы и аппараты химической технологии: учебник для вузов / А. Г. Касаткин. – М.: ИД Альянс, 2008. – 792 с.

7. *Османов В. К.* Методы выделения и очистки продуктов биотехнологических производств / В. К. Османов, О. В. Бирюкова, А. В. Борисова. - Нижний Новгород, 2005. - 27 с.

8. *Хохлова И. Ю.* Выделение и исследование абиотической активности метаболита Pseudomonas aeruginosa пиоцианина / И. Ю. Хохлова, М. В. Чубик // Перспективы развития фундаментальных наук: матер. IX межд. конф. студ. и молодых уч., Томск, 22-27 апр. 2012. - Томск, 2012. - С. 513-515.

9. Pseudomonas aeruginosa extracellular products inhibit staphylococcal growth, and disrupt established biofilms produced by Staphylococcus epidermidis / Zh Qin [et al.] // Microbiology. – 2009. – V. 155(7). – P. 2148-2156.

ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ РОЗРОБКИ ПРОБІОТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ДИСБІОЗІВ

Віра Камишнікова, Олена Івахненко, Леонід Стрельников

Національний фармацевтичний університет, м. Харків,Україна

Abstract. The analysis of the literature on the specifics of the development of probiotic preparations for the correction of microflora. Indicated that the therapeutic effect of probiotics is closely associated with the scientific justification for the choice of production strains that determine the safety, immunomodulatory effect, adhesion and survival of microorganisms in terms of induction body.

Keywords: probiotic drug dysbiosis, dosage form.

Вступ. У медичній практиці для нормалізації порушеного мікробіоценозу організму людини широко використовуються засоби бактеріальної терапії (пробіотики) [4]. Пробіотики - це живі мікроорганізми і речовини мікробного походження, що за природного способу уведення забезпечують позитивні ефекти на фізіологічні, біохімічні та імунні реакції організму людини через стабілізацію та оптимізацію функцій його нормальної мікрофлори [7,8,9,10].

При призначенні пробіотичних препаратів (ПП) для профілактичних або терапевтичних цілей відбувається корекція порушеної нормальної мікрофлори людини. Висока частота дисбіотичних станів різного генезу серед дорослого населення та дітей обумовлює значну потребу в лікарських препаратах, що здатні до корегування порушення нормальної мікрофлори кишечника людини [1, 6].

Тому розробка нових, ефективних препаратів пробіотиків є актуальним завданням сучасної фармацевтичної практики. Представники корисної мікрофлори в конкретному біотопі (ротовій порожнині, кишечнику, вагінальному каналі) мають бути у достатній кількості для запобігання проникненню патогенних мікроорганізмів в епітеліальні клітини. Крім того, пробіотичні мікроорганізми створюють несприятливе для патогенів pH

середовища, колонізуючи вільну мікроеконішу. Тим самим відновлювати баланс мікрофлори, який був порушений при дисбіозах.

Результати та обговорення. При створенні нових високоефективних пробіотиків промислові пробіотичні штами повинні володіти стійкістю до літичних ферментів слини (лізоциму) і травних ферментів (пепсину, ліпази), стійкістю до жовчі. Вони повинні бути випробувані на симбіотичність та стійкість до виживання в несприятливих умовах, продукувати біологічно активні речовини - вітаміни, амінокислоти, антитоксини, інтенсивно розвиватися на різних поживних середовищах, проявляти широкий спектр антагоністичної активності до патогенних і умовно-патогенних для людини мікроорганізмів, володіти адгезивністю до слизової кишечника, стійкістю до максимально широкого кола антибіотиків, до технологічних стадій отримання готової лікарської форми, особливо, до висушування [9]. Це необхідно, тому що препарат повинен зберігати життєздатність пробіотичних бактеріальних клітин і терапевтичні властивості протягом не менше 1,5-2 років, а цього можна досягти лише при висушуванні препарату до відносної вологості не вище 5 %. Крім цього пробіотик повинен бути нешкідливим для організму людини. Дуже важливо, щоб пробіотичні культури доповнювали одна одну за біологічною активністю, проявляючи ефект синергізму в препараті. Так використання механічних сумішей декількох штамів мікроорганізмів в одному препараті (наприклад, біфікол - суміш *Bifidobacterium bifidum i Escherichia coli* М 17) не виправдало очікування щодо підсумовування властивостей окремих компонентів. В результаті терапевтична активність є не вищою, ніж при використанні пробіотика на основі одного з штамів композиції. Таким чином, механічна суміш бактеральних штамів, попередньо вирощених і висушених окремо, не дозволяє отримати пробіотик з підвищеними терапевтичними властивостями. Тому є необхідними використання систем мікроорганізмів, в яких кожен штам позитивно впливає на метаболічну активність інших культур. Такі системи називаються симбіотичними. Вони цікаві також тим, що властивості окремих симбіонтів можуть значно трансформуватись, і а кореговані зміни у потрібному напрямку допоможуть досягти бажаного ефекту [8]. Для того, щоб пробіотики могли успішно виконувати своє призначення і

забезпечувати ефективне зростання колоній в кишечнику, необхідно поєднання цілого ряду сприятливих факторів і умов. Однак, неможливо кардинально вплинути на всі причини і передумови, які мають відношення до такої складної і поліетіологічної проблеми, як дисбіоз, але з огляду на певні медико-біологічні аспекти, застосування новітніх технологій надає можливість створювати високоефективні лікарські препарати з великим споживчим потенціалом. Нині пробіотики випускаються в наступних лікарських формах: ліофільно висушена біомаса у флаконах, ампулах, желатинових капсулах, супозиторії ректальні та вагінальні, таблетки та суспензії живих пробіотичних бактерій [4]. Слід зазначити, що пробіотики, що містять ліофільно висушену біомасу, зберігають лікувальні властивості значно довше, ніж рідкі пробіотики. Головна перевага рідкої форми пребіотичних препаратів полягає в тому, що бактерії в них знаходяться в живій біологічно активній формі, що дозволяє позитивно впливати відразу після прийому препарату. В сухих формах пробіотиків бактерії знаходяться в глибокому анабіозі, і їм потрібно 8-10 годин для переходу до активного фізіологічного стану, однак до цього часу більша їх частина може природним чином елімінувати з кишечника. На сьогоднішній день у біотехнологічній практиці виробничі штами бактерій, що входять до складу ПП, характеризують за наявністю чинників адаптації і пробіотичної активності, за ступенем вираженості імуномодулюючих властивостей і спектром відновлюваних регуляторних метаболічних функцій макроорганізму, включаючи нормалізацію процесів електролітного обміну, окислюючого фосфорилювання і регенерацію пошкоджених клітин. Ймовірно, це відбувається в результаті того, що при регідратації сухої суміші декількох штамів (під час прийому ліків) в залежності від складу поживного середовища та його фізико-хімічних параметрів один зі штамів отримує переважний розвиток, а інші мікроорганізми гинуть. Застосування пробіотиків базується на індивідуальному підході до кожної вікової категорії пацієнтів, які страждають дисбіозом [8,11]. Слід зазначити, що ефект пробіотикотерапії залежить від виду мікроорганізмів, форми лікарського препарату, що застосовується, та способу його введення в організм пацієнта. Крім

того, ефект пробіотикотерапії визначається імунним статусом пацієнта та гостротою перебігу патологічного процесу [9].

Більшість пробіотиків на фармацевтичному ринку представлені моно-, полікомпонентними, комбінованими і сорбованими формами [4,6]. До складу монокомпонентних ПП входять біфідобактерії, лактобацили, ешерихії, ентерококи або самоелімінуючі антагоністи - *Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis, Saccharomyces boulardii).* До числа зазначених ПП відносяться «Біфідумбактерин», «Лактобактерин», «Колібактерин», «Біфікол», «Ентерол», «Бактісубтіл», «Споробактерин». До комбінованих ПП відноситься «Кіпацид», що містить *Lactobacillus acidophilus* і комплексний імуноглобулін; «Біфіліз», що включає *Bifidobacterium bifidum* 1 і лізоцим; нутролін - В, що містить *Lactobacillus sporogenes,*а також тіаміну мононітрат, рибофлавін, пірідоксингідрохлорид і нікотинамід [5,10]. До сорбованих ПП відносяться «Біфідумбактерин форте» та «Пробіфор», що містять іммобілізовані на активованому вугіллі життєздатні бактерії *Bifidobacterium bifidum1;* «Флорин форте», що представляє собою імобілізовані на активованому вугіллі життєздатні бактерії *Bifidobacterium bifidum1* і *Lactobacillus plantarum* 8РА-3; «Біфіформ» - капсули кишковорозчинні *(Bifidobacterium longum, Enterococcus faecium* і поживне пребіотичне середовище), «Біфіформ Малюк» *(Lactobacillus rhamnosus* GG*, Bifidobacterium lactis* ВВ-12, вітаміни – тіамін, піридоксин і фруктоолігосахарід). Полікомпонентними ПП є «Біфікол» *(Bifidobacterium bifidum* 1, *Escherichia coli* М17*),* «Ацілакт» *(Lactobacillus acidophillus* - 3 різні штами), «Аціпол» *(Lactobacillus acidophilus* і полісахарид кефірних грибків), «Лінекс» *(Lactobacillus acidophillus, Bifidobacterium infantis* і *Streptococcus spp.*) [4]. Більшість наявних ПП представлено у вигляді сухої ліофільно висушеної маси, яку при пероральному застосуванні необхідно захищати від інактивації шлункового соком (низького значення pH, наявності гідролітичних ферментів і т.д.). Тому сучасні готові лікарські форми пробіотиків існують у желатинових капсулах або у вигляді таблеток, вкритих кишковорозчинною оболонкою [4, 7]. Кишковорозчинні покриття володіють більш вираженими, ніж інші покриття вологозахисним ефектом, що є одним з основних факторів в стабілізації пробіотичних препаратів.

Такий препарат з має більш тривалий термін зберігання і більш ефективну пролонговану лікувально-профілактичну дію на всіх ділянках шлунково-кишкового тракту за рахунок високої колонізаційної активності.

Створення пробіотиків у вигляді таблеток і капсул з кишково-розчинним покриттям дозволяє не тільки поліпшити споживчі якості препаратів, а й підвищити їх стійкість при зберіганні, зберегти про біотичні мікроорганізми від деградуючої дії ферментів і pH шлунка, а також збільшити біодоступність і пролонгованість дії, і як наслідок посилити профілактичний і терапевтичний ефект препарату.

Висновки. Таким чином отримання високоефективних пробіотиків вимагає проведення глибоких експериментальних досліджень, що підтвердять нешкідливість препарату, його імунобіологічні властивості та антагоністичну активність. А вдосконалення технологічних процесів виробництва мікробної біомаси, методів її стандартизації і розробка нових лікарських форм пробіотиків із ефективною і цілеспрямованою терапевтичною дією дозволить вирішити проблему дисбіотичних порушень у населення України.

Список літератури

1. *Андреева И.В.* Доказательства обоснованности профилактического применения пробиотиков // Фарматека.- 2006. - №6. - С.56-62.

2. *Ардатская М.Д.* Дисбактериоз кишечника: понятие, диагностика, принципы лечебной коррекции // Consilium medicum. - 2008. - №8. - С.86–92.

3. *Ардатская М.Д.* Пре- и пробиотики в коррекции микроэкологических нарушений кишечника // Фарматека. - 2011. - №12. - С. 62–69.

4. *Бондаренко В.М.* Характеристика и терапевтический потенциал пробиотиков по данным клинических испытаний // Биопрепараты. - 2007.-№1.-С.11–15.

5. *Бондаренко В.М.* По поводу нового подхода к классификации фармакопейных лекарственных пробиотических препаратов, биологически активных добавок к пище и продуктов функционального питания // Фарматека.- 2007. - №2. - С. 62–64.

6. *Бондаренко В.М.* Молекулярно–клеточные механизмы терапевтического действия пробиотических препаратов // Фарматека. - 2010. -№2. - С.26–32.

7. *Бухарин О.В.* От персистенции к симбиозу микроорганизмов// Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. - 2012. - №4.- С.4–9.

8. *Гордиенко П.А., Чуешов В.И.* Разработка таблетированного синбиотика с кишечнорастворимым покрытием // Тезисы 2-го Междунар. конгресса по пробиотикам, Санкт-Петербург. – 2009. - С.10–11.

9. *Зрячкин Н.И.* Новый подход к классификации пребиотиков, пробиотиков и синбиотиков // Фарматека. - 2007. - №2. - С.58 – 61.

10. *Кафарская Л.И.* и др. Особенности формирования микрофлоры у детей раннего возраста и пути его коррекции с помощью пробиотиков // Педиатрическая фармакология. - 2011. - №2. - С.94–98.

11. *Ушкалова Е.А.* Роль пробиотиков в гастроэнтерологии // Фарматека. -2007.-№6.- С.16–23.

ЗАСТОСУВАННЯ БІОФЛАВОНОЇДУ КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ЛІКУВАННІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ЙОГО УСКЛАДНЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Юлія Кульбаєва

Національний університет харчових технологій

Тетяна Дубілей

ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф.Чеботарьова НАМН України»

Abstract. The article presents the results of experimental and clinical studies concerning the influence of quercetin on pathophysiological manifestations of diabetes. Analysis of the literature leads to the conclusion that the antioxidant, hypoglycemic and anti-inflammatory properties of quercetin enhance the efficiency of traditional therapy of this disease and its complications.

Keywords*:* quercetin, diabetes, diabetes-associated pathology

Вступ. Цукровий діабет (ЦД) – одне з найбільш небезпечних ендокринних захворювань, оскільки воно супроводжується численними ускладненнями з боку нервової та серцево-судинної системи (периферична, автономна, центральна нейропатії, мікро- та макроангіопатії), нирок (нефропатії), органів зору (ретинопатії), глибокими відкритими ураженнями ніг (діабетична стопа), а також високим артеріальним тиском. Досить часто ця хвороба тривалий час залишається непоміченою, якщо не контролювати рівень цукру в крові [1].

Однією з ключових ланок патогенезу ЦД та його ускладнень вважається окислювальний стрес, що розвивається в результаті накопичення вільних радикалів, які утворюються при аутоокисленні глюкози на тлі хронічної гіперглікемії. Посилена продукція вільних радикалів відбувається завдяки активації процесу перетворення глюкози в енольну форму, накопиченню сорбітолу, неферментативному глікозилюванню білків і утворенню кінцевих

продуктів глікозилювання. Подальше пошкодження фосфоліпідного шару плазматичних мембран *β*-клітин підшлункової залози сприяє прогресуванню інсулінорезистентності і зниженню секреторних можливостей інсулярного апарату за рахунок апоптозу *β*-клітин [2, 3]. Таким чином, зменшуючи виразність окислювального стресу за допомогою антиоксидантної терапії можна не тільки призупинити прогресування інсулінової недостатності і діабетичних ускладнень, але й знизити резистентність клітин до інсуліну, сприяючи тим самим кращій компенсації порушень вуглеводного обміну.

До природних антиоксидантів відносяться флавоноїди, зокрема кверцетин. Антиоксидантні властивості кверцетину відомі давно, однак інтерес до нього як до можливого антидіабетичного засобу з'явився відносно недавно. Разом з тим, на сьогоднішній день вже накопичено чимало даних, що стосуються ефектів цього флавоноїда при лікуванні ЦД [4, 5].

Антиоксидантна дія кверцетину при експериментальному ЦД 1 типу проявляється достовірним зниженням рівня маркера процесів перекисного окислення ліпідів – малонового діальдегіду, та нормалізацією фізіологічного антиоксидантного захисту за рахунок посилення активності глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази і каталази в печінці, а також безпосередньо в тканинах підшлункової залози, що сприяє підвищенню секреторних можливостей інсулярного апарату [6, 7]. З антиоксидантними властивостями пов'язані антиішемічна, антигіпоксантична, гіполіпідемічна активність кверцетину, застосування якого знижує ризик макросудинних ускладнень ЦД. Безсумнівний інтерес представляє антигіперглікемічна дія кверцетину при ЦД 1 і 2 типів, про що свідчать результати експериментальних і клінічних досліджень. Так, показано, що застосування кверцетину в діапазоні доз 50 - 120 мг/кг маси тіла нормалізує рівень глюкози та інсуліну в плазмі крові діабетичних тварин, достовірно знижує концентрацію глікозильованого гемоглобіну, який є маркером розвитку ускладнень ЦД [8]. Також встановлено, що кверцетин і його аналоги блокують вироблення проапоптичних цитокінів, в тому числі і фактора некрозу пухлин-альфа, який індукує апоптоз інсулінпродукуючих клітин як при аутоімунному діабеті, так і при ЦД 2 типу.

Результати патоморфологічних досліджень підтверджують протекторну роль кверцетину по відношенню до *β*-клітин підшлункової залози в умовах ЦД і окислювального стресу, спрямовану на збереження цілісності та архітектоніки острівців підшлункової залози, гальмування апоптозу [9, 10]. В останні роки доведено взаємозв'язок гіперглікемічних піків і ускладнень ЦД 1 типу. Одним з терапевтичних підходів до зниження гіперглікемії є уповільнення всмоктування вуглеводів у кишечнику. Серед фенольних сполук тільки кверцетин і катехіни в експерименті показали виражену інгібіторну активність щодо кишкової α-глюкозидази на рівні відомого препарату акарбози. Таким чином, кверцетин одночасно з антиоксидантною активністю проявляє антигіперглікемічну дію, що дозволяє вважати його перспективним для створення нового антидіабетичного засобу [11].

Дані літератури [12, 13] свідчать про те, що застосування кверцетину одночасно з базовою терапією у хворих із постінфарктним кардіосклерозом і супутнім цукровим діабетом 1-го типу сприятливо впливає на клінічний перебіг ішемічної хвороби серця, а саме чинить виражений антиангінальний ефект (зниження частоти нападів стенокардії), підвищує толерантність до фізичного навантаження, викликає пригнічення інтенсивності перекисного окислення ліпідів (зниження рівня малонового діальдегіду), а також підвищує активність антиоксидантної системи (зростання активності каталази та рівня церулоплазміну). При використанні кверцетину відмічається також позитивна динаміка показників ліпідного обміну (зменшення рівня тригліцеридів, загального холестерину, холестерину ліпопротеїдів низької і дуже низької щільності та зростання рівня холестерину ліпопротеїдів високої щільності).

Водорозчинна форма кверцетину – препарат Корвітин – сприяє відновленню стану нирок при експериментальному ЦД з ожирінням, що підтверджується пригніченням процесів перекисного окиснення ліпідів (зменшення кількості гідропероксидів ліпідів, ТБК-активних продуктів і дієнових кон’югатів), позитивними змінами компонентів антиоксидантної системи (підвищення активності супероксиддисмутази, каталази, збільшення вмісту відновленого глутатіону), зростанням рівня нітрат-аніона, відновленням

активності ферментів мітохондрій (цитохром оксидази та сукцинатдегідрогенази). Отримані результати є підґрунтям для поглибленого вивчення властивостей препарату як ефективного засобу для профілактики та лікування діабетичної нефропатії [14].

Суттєвим механізмом прогресування діабетичної ретинопатії (ДР) є гіперглікемія. Вона викликає підвищення синтезу мононуклеарними лейкоцитами прозапальних цитокінів, що сприяє формуванню цитокінового дисбалансу. У дослідженнях [15] встановлено, що при ДР існує достовірний вплив кверцетину на функціональну активність мононуклеарних клітин: при культивуванні клітин в присутності кверцетину рівень цитокінів в культуральному середовищі знижується, що дозволяє рекомендувати кверцетин для лікування ДР. Ще в одному дослідженні показано, що застосування кверцетину в комплексному лікуванні хворих з ДР пришвидшує нормалізацію просвіту мікросудин, зменшує мікрогеморагії та набряк макули ока [16].

Висновки. Аналіз літературних даних свідчить про те, що кверцетин може бути ефективним та перспективним допоміжним засобом у терапії ЦД та його ускладнень, оскільки він впливає на комплекс патогенетичних ланок захворювання, спричиняючи гіпоглікемічну, протизапальну та антиоксидантну дію. Актуальним є вивчення антидіабетичних властивостей різних лікарських форм кверцетину, зокрема його водорозчинної форми - вітчизняного препарату Корвітин. Саме цій проблемі будуть присвячені наші подальші експериментальні дослідження.

Список літератури

1. *Боднар П.М., Михальчишин Г.П.* Актуальні питання діагностики та лікування цукрового діабету / / Мистецтво лікування. – 2013. – №1. – С. 51–55.

2. *Evans J. L., Goldfine I. D., Maddux B. A.* Are oxidative stress activated signaling pathways mediators of insulin resistance and *β*-cell dysfunction // Diabetes. – 2013. – Vol. 52. – P.1-8.

3. *Seo M. S., Whalin K. M., Harrison D. G.* Oxidative stress and diabetic vascular complications // Current Diabetes Reports. – 2014. – V. 4. – P. 247-252.

4. *Мерецький В.М.* Фітотерапевтичні аспекти лікування цукрового діабету // Фітотерапія. – 2015. – № 1. – С. 6–10/

5. *Gross M.* Flavonoids and cardiovascular disease // Pharm. Biol. – 2014.– V. 42. – P. 21-35.

6. *Vessal M., Hemmati M.* Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats // Comp. Biochem. Physiol. – 2013. – V. 135. – P. 357-64.

7. *Mahesh T., Menon V.P.* Quercetin allievates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats // Phytother. Res. – 2014. – V. 18. – P. 123-127.

8. *Sarkar S., Mandal S., Sinha J.* Quercetin: critical evaluation as an antileishmanial agent in vivo in hamsters using different vesicular delivery modes // J. Drug Target. – 2012. – V. 10. – P. 573-578.

9. *Calderone V., Chericoni S., Martinelli C.* Vasorelaxing effects of flavonoids: investigation on the possible involment of potassium channels // Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. – 2014. – V. 370. – P. 290-298.

10. *Sanchez M., Galisteo M., Vera R.* Quercetin dawnregulates NADPH oxidase, increases eNOS activity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats // J. Hypertens. – 2015. – V. 24. – P. 75-84.

11. *Aguirre L., Arias N., Macarulla T.* Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes // The Open Nutraceuticals. – 2013. – V. 4. – P. 189-198.

12. *Romero M., Jimenez R., Sanchez M.* Quercetin inhibits vascular superoxide production induced by endothelin-1: role of NADPH oxidase, uncoupled eNOS and PKC // J. Atherosclerosis. – 2012. – V. 202. – P. 58-67.

13. *Росул М. М.* Обливості перебігу ішемічної хвороби серця з постінфарктним кардіосклерозом у хворих із супутнім цукровим діабетом 2-го типу та ефективність застосування препаратів із антиоксидантними властивостями – К., 2014. – 21 с.

14. *Зозуляк Н. Б.* Вплив водорозчинної форми кверцетину на стан нирок при експериментальному цукровому діабеті // Теорія та експеримент. – 2014. – №6. – ст.5-8.

15. *Иванова Н. В., Ярошева Н. А., Ярошева Л. М.* Обоснование применения флавоноида (кверцетина) у больных с диабетической ретинопатией // Новая наука. – 2016. – №.3 – 179 с.

16. *Ярошева Н. А.* Применение флавоноида – кверцетина в лечении больных диабетической ретинопатией // Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії. – Одесса, 2015. – №8. – ст.272-280.

ІМУНОТЕРАПІЯ РАКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Ірина Лутчин

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The article describes one of the biggest problems of humankind - cancer. Considered the perspective vaccine therapy based on dendritic cells and analyzed the main methods of developing DC vaccines.

Keywords: cancer, dendritic cells, DC vaccine.

Вступ. Рак – одна з основних причин смертей у всьому світі. Згідно з останнім звітом Всесвітньої організації охорони здоров'я, до 2030 року кількість нових випадків захворювання на рак зросте приблизно на 70%, досягнувши цифри 21,6 мільйона в рік (в порівнянні з 14 мільйонами в 2012 році). Кількість смертей від онкологічних захворювань зросте з 8,2 мільйона до 13 мільйонів в рік, так як населення світу збільшується, і все більша кількість людей віддають перевагу нездоровому способу життя і шкідливим звичкам [1 - 3].

За словами генерального директора ВООЗ доктора Маргарет Чань, найбільше випадків захворювання буде реєструватися в країнах, що розвиваються з низьким і середнім рівнем життя [4].

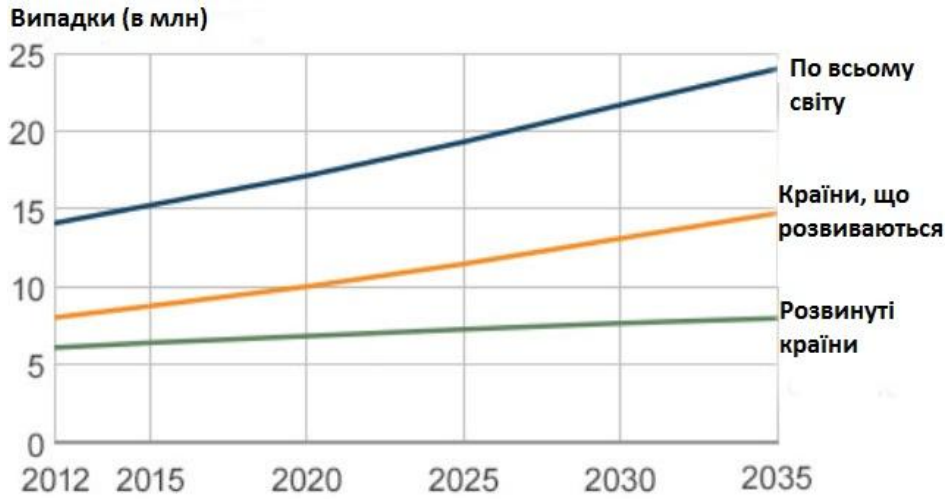


Рис. 1. Прогноз збільшення кількості ракових захворювань у світі

Україна відрізняється високим рівнем онкозахворюваності й входить до першої десятки країн світу щодо цього показника, маючи більше 160 тисяч хворих на рік. За даними ВООЗ в Україні рак легень – одне з найпоширеніших онкологічних захворювань серед чоловіків, а рак молочної залози – серед жінок [5].

Медицина не стоїть на місці, постійно вчені шукають спроби для подолання страшної хвороби, проте досі не знайдено препарат чи метод, який би зумів назавжди та зі 100% ефективністю покінчити з раком. Великі надії покладають на вакцинацію.

Основна частина. Імунотерапія раку за допомогою вакцин на основі дендритних клітин (ДК) становить найбільшу надію для пацієнтів на пізніх стадіях раку, які не реагують на звичайне лікування.

Введення ДК в імпульсному режимі пухлинних антигенів добре переноситься і аутоімунних реакцій у вакцинованих пацієнтів не спостерігається. Вакцинація ДК в імпульсному режимі пептидами або пухлинними лізатами викликає терапевтичні пухлино-специфічні відповіді в деяких злоякісних новоутвореннях.

Незважаючи на це, ДК-вакцини характеризуються низькою токсичністю і повні або часткові клінічні реакції є досить рідкісними [6-9].

Найширшого застосування здобули аутологічні вакцини на основі дендритних клітин, призначені для конкретного хворого, так як це абсолютно індивідуальний підхід, де унікальний масив мутованих пухлинних антигенів у кожного пацієнта може мати важливе значення для пухлинного відторгнення [10].

Безумовно, аутовакцини мають свої слабкі сторони, в першу чергу, їх використання не дає задовільного результату при всіх захворюваннях. Такі вакцини є індивідуальними, тому їх не можна застосовувати для широкого кола людей у масштабному виробництві [6, 11].

Набагато дешевшими та більш імуногенними є препарати, які створюються на основі пухлинних клітин кількох хворих та можуть вводитись багатьом пацієнтам (алогенні). Причому дендритні клітині, які входять до

складу таких вакцин, доцільно виділяти із здорового організму, що значно підвищує ефективність знищення ракових клітин [11, 12].

Методи отримання ДК-вакцин. Існують різні методи отримання ДК-вакцин. У Національному інституті раку МОЗ України розроблено дві оригінальні конструкції протипухлинних вакцин на основі ДК, що розрізняються способами навантаження ДК пухлинних матеріалом [13].

У першому способі отримання вакцини пухлинні клітини обробляють продуктами метаболізму штаму *Bacillus subtilis* В-7025. Застосовують фільтрат культуральної рідини або лектини з вищою цитотоксичною активністю, які проявляють синергічну дію по відношенню до ракових клітин, що дозволяє підвищити імуногенність вакцини. Використання продуктів метаболізму штаму-продуцента, який культивують на дешевих поживних середовищах надає також значний внесок у зменшення витрат при виготовленні вакцини [14].

Друга вакцина розроблена на основі унікальної біоінженерної технології механічної гетерогенізації пухлинних клітин, передбачає обробку ліофілізованих пухлинних клітин за допомогою мікровібромельниці. Обробка такими пухлинними клітинами при виготовленні ДК-вакцини супроводжується посиленням інгібуючого впливу на пухлинний ріст і процес метастазування [15].

Існує імунотерапія дендритними клітинами, навантаженими гліколіпідним антигеном α-галактозилцерамідом, що є специфічним активатором натуральних кілерних Т-клітин (НКТ-клітин) [16].

Проведена терапія зменшує кількість рецидивів та метастазів за рахунок активації НКТ-клітин під час лікування хворих, проте запропонована дендритноклітинна вакцина стимулює лише один з компонентів Т-клітинної ланки імунітету, оскільки для навантаження дендритних клітин використовується синтетичний гліколіпід, що активує у хворих виключно НКТ-клітини [16].

Відомий спосіб одержання протипухлинної аутовакцини шляхом обробки пухлинних клітин поліпептидом кислої природи, виділеним з культуральної рідини штаму мікроорганізму *Bacillus mesentericus* АБ-56. Вакцина не супроводжує появу токсичних ефектів. Однак, при одержанні фільтрату чи

поліпептиду культуральної рідини за такими способами використовується дороге поживне середовище. Крім того, ці протипухлинні аутовакцини не мають необхідної на сьогодні профілактичної та терапевтичної ефективності [17].

У США вчені розробили метод отримання дендритноклітинної вакцини проти раку простати, який полягає в отриманні ДК пацієнта і подальшої їх активації *in vitro* пухлинним антигеном (білком, який активно виробляється в злоякісних клітинах раку простати – простатичною кислою фосфатазою) [18].

Три роки тому вакцину вже практично схвалили після того, як консультативна рада FDA встановила, що вона є ефективним і безпечним препаратом для лікування раку простати. Однак на той момент консультативна рада була стурбована відносною нетривалістю III фази клінічних випробувань препарату. Більш того, хоча вакцина збільшувала тривалість життя чоловіків з прогресуючим раком простати, зростання самої пухлини вона не зупиняла [18].

Відомий спосіб американської розробки вакцини, де зрілі ДК активують (навантажують) одним з пухлинних антигенів (WT-1), який виражається у великих кількостях при різних ракових захворюваннях. Це робить ДК особливим підходом для лікування різних видів раку, включаючи рак легенів, рак молочної залози, рак голови та шиї, хронічний мієлоїдний лейкоз, рак яєчників, рак товстої кишки, множинної мієломи, рак передміхурової залози, рак шкіри, мієлодиспластичний синдром, рак мозку і рак сечового міхура. Крім того, виявлено, що отримана таким способом вакцина здатна індукувати утворення ІФН-γ [19].

Подібна вакцина на основі дендритних клітин була розроблена в Китаї. Для активації ДК додавали в середовище культивування антигенний білок, отриманий з клітин раку молочної залози. Даний метод сприяє високій антигенпрезентувальній здатності та ефективній проліферації Т-лімфоцитів [20].

У Кореї було розроблено ряд вакцин на основі ДК, а саме проти нирково-клітинного раку, раку простати, печінки та раку головного мозку. АПК активували за допомогою специфічних антигенів, виділених з відповідних типів пухлин. Дані вакцини продемонстрували високу ефективність в боротьбі з

онколпатологією та безпечність у використанні. Істотних недоліків не було виявлено [21].

Висновки. Існує безліч методів отримання ДК-вакцин, кожен з яких містить ті чи інші недоліки та переваги. Проте при розробці імунобіологічного препарату для лікування раку варто враховувати не тільки вартість виробництва вакцини, а й фізіологічні особливості хворого, що є ключовим моментом для ефективного подолання хвороби.

Список літератури

1. *Mohammed S., Bakshi N., Chaudri N.* et al. Cancer Vaccines: Past, Present, and Future // Adv. Anat. Pathol. – 2016. – V. 23. – N 3. – P. 180 – 191.

2. *Бондарь Г.В.* Онкологія. / Г.В. Бондарь, Ю.В. Думанський, О.Ю. Попович. – К.: Медицина, 2013. – 542 с.

3. Вакцинація проти раку: погляд експертів. // Прес-служба «Щотижневика АПТЕКА». – 2014. Т. 940. № 12. [Електронний ресурс] // Режим доступу: http://www.apteka.ua/article/291123?print=1.

4. ВОЗ предупреждает о грядущей волне онкологических заболеваний [Электронный ресурс] // Режим доступа: http://www.vesti.ru/doc.html?id=1252885&cid=1

5. World Health Organization - Cancer Country Profiles [Electronic resource] – 2014. – URL: http://www.who.int/cancer/country-profiles/ukr_en.pdf?ua=1.

6. *Потебня Г. П.* [Электронный ресурс] Противоопухолевые вакцины - перспективное терапевтическое направление в онкологии // Онкология.– URL: http://i-medic.com.ua/index.php?newsid=2547.

7. *Vandenberk L., Belmans J., Woensel M. at al.* Exploiting the immunogenic Potential of Cancer Cells for improved Dendritic Cell vaccines // Frontiers in Immunology. – 2016. – V.6. doi: 10.3389/fimmu.2015.00663

8. *Khansari N*. Dendritic Cell Vaccine and its Application in Cancer Therapy // Int. J. of Vaccines and Vaccination. – 2015. – V. 1. – N 1. doi: 10.15406/ijvv.2015.01.00002.

9. *Mac Keon S., Ruiz MS., Gazzaniga S., Wainstok R.* Dendritic cell-based vaccination in cancer: therapeutic implications emerging from murine models // Front. Immunol. – 2015. – V. 6. doi: 10.3389/fimmu.2015.00243.

10. *Chiang C.L., Coukos G., Kandalaft L.E.* Whole Tumor Antigen Vaccines: Where Are We? // Vaccines. – 2015. – V. 3. – P. 344 – 372. doi:10.3390/vaccines3020344.

11. *Балдуева И.А. Противоопухолевые вакцины* // Практическая онкология. – 2003. – № 3. – С. 157 – 166.

12. Противоопухолевые вакцины. [Электронный ресурс] // Режим доступа: http://www.cancerquest.org/printfriendly.cfm?printsub=1020&lang= russian.

13. *Храновская Н.Н., Крячок И.А., Ганул В.Л.* и др. Разработка, обоснование и оценка эффективности противоопухолевой вакцинотерапии на основе дендритных клеток у больных со злокачественными новообразованиями // Экспериментальные исследования, онкоморфология, онкоиммунология. – 2014. – Т. 14. – № 2.

14. *Пат. № 57869 UA A61K35/12,38/01,38/17.* Спосіб одержання протипухлинної аутовакцини / Потебня Г.П., Лисовенко Г.С., Черемшенко Н.Л. та ін. – Опубл. 15.07.2003.

15. *Орел В.Э, Гриневич Ю.А., Дзятковская Н.Н.* и др. Биоинженерная технология получения опухолеспецифического антигена на основе механохимически радиационно-гетерогенизированных опухолевых клеток. Специфічна імунотерапія в онкології // Здоровье. – 2008. – С. 31–38.

16. *Пат. № 49483 UA A61K 39/00, A61K 35/14.* Спосіб імунотерапії хворих на рак легені / Храновська Н.М., Скачкова О.В., Ситько В.В та ін. – Опубл. 26.04.2010.

17. *Пат. 88842 UA A61K 35/12, A61K 35/66, A61K 39/07, A61P 35/00.* Спосіб одержання протипухлинної аутовакцини / Чехун В.Ф., Черемішенко Н.Л., Кулік Г.І. та ін. – Опубл. 25.11.2009.

18. Протираковая вакцина будет одобрена для клинического применения в США // Интернет-журнал о коммерческих биотехнологиях. – 2010. [Электронный ресурс] // Режим доступа: http://cbio.ru/page/51/id/4954/.

19. *Pat. 20150297698 US.* Therapeutic cancer vaccines derived from a novel dendritic cell line / Wetering S., Kruisbeek M. – Publ. 22.10.2015.

20. *Pat. 201310638796 CN.* Method for preparing human dendritic cell vaccine / Ма Ван Фей Ю., Ло Хаолінг – Publ. 26.02.2014.

21. Dendritic Cell Vaccine Technology [Electronic resource] // JW Creagene. – 2014. – URL: http://www.creagene.com/creagene/en/randd/DC vaccine.jsp.

РУЙНУВАННЯ БІОПЛІВОК ЗА НАЯВНОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ІМВ В-7241, СИНТЕЗОВАНИХ НА РІЗНИХ ВУГЛЕЦЕВИХ СУБСТРАТАХ

Дар'я Луцай, Тетяна Пирог

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The ability of surfactants, synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 on ethanol, *n*-hexadecane, purified and technical glycerol to destroy bacterial biofilms *Bacillus subtilis* БТ-2, *Escherichia coli* IEM-1, *Staphylococcus aureus* БМС-1 and *Candida albicans* Д-6 was studied. It was shown that all synthesized surfactants destroyed the test-culture biofilms independently carbon source in medium of producer cultivation but the efficiency of used preparations depended on the surfactants concentration, cultivation conditions and type of test-culture.

Keywords: *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, destruction of biofilms, cultivation conditions

Вступ. Колонізація мікроорганізмами поверхонь і подальше формування біоплівки може спричиняти поширення інфекційних захворювань. За оцінками, тільки в США щорічно реєструють 17 мільйонів інфекційних захворювань, спричинених біоплівками, серед яких до 550 тисяч смертельних випадків [1]. Крім того, біоплівки є причиною пошкодження обладнання, забруднення цільового продукту та втрат енергії. На боротьбу з цими явищами щорічно витрачаються мільярди доларів [2].

На сьогодні класичні стратегії дезінфекції та очищення не є достатньо ефективними щодо руйнування утворених біоплівок через їх специфічну фізіологію та фізичні бар'єри, що зумовлені екзополісахаридами, синтезованими бактеріальним угрупованням. З літератури [3] відомо, що мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) здатні не лише попереджувати

адгезію мікроорганізмів на абіотичних та біотичних поверхнях, а й руйнувати уже сформовані на них біоплівки. Так, раніше було встановлено, що ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованим на етанолі, гліцерині та *н*-гексадекані, притаманні антиадгезивні властивості [3]. У зв'язку з викладеним вище мета дослідження – дослідити здатність ПАР штаму ІМВ В-7241, синтезованих на різних вуглецевих субстратах, руйнувати бактеріальні та дріжджові біоплівки.

Матеріали і методи дослідження. Продуцент ПАР – штам *Acinetobacter calcoaceticus* К-4, зареєстрований в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України за номером ІМВ В-7241.

Штам *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 вирощували в рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): $(NH_2)_2CO$ – 0,35; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1; NaCl – 1,0; Na_2HPO_4 – 0,6; KH_2PO_4 – 0,14; вода дистильована– до 1 л, pH 6,8–7,0. У середовище додатково вносили дріжджовий автолізат – 0,5 % (об'ємна частка) і розчин мікроелементів – 0,1 % (об'ємна частка).

Джерело вуглецю та енергії в середовищі культивування (об'ємна частка): етанол, *н*-гексадекан (2 %), очищений (1 %) та технічний гліцерин (5 %) [4]. Як посівний матеріал використовували культуру з експоненційної фази росту, вирощену на середовищі наведеного вище складу з 0,5% відповідного субстрату.

Для досліджень використовували такі препарати:

препарат 1 – супернатант культуральної рідини;

препарат 2 – розчин ПАР, виділених екстракцією сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1) з супернатанту (препарату 1) як описано раніше [4].

Як тест-культури для утворення біоплівки використовували бактерії *Bacillus subtilis* БТ-2, *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Staphylococcus aureus* БМС-1 та дріжджі *Candida albicans* Д-6 з колекції живих культур кафедри біотехнології та мікробіології Національного університету харчових технологій.

Дослідження впливу ПАР на руйнування біоплівки здійснювали як описано у роботі [1]. Для формування біоплівки у полістиролові мікропланшети вносили 180 мкл м'ясо-пептонного бульйону (МПБ) чи рідкого сусла та 20 мкл суспензії однодобової тест-культури, інкубували упродовж 24 год при оптимальній для тест-культури температурі, після чого зливали культуральну рідину і вносили 180 мкл свіжого МПБ (рідкого сусла) і 20 мкл суспензії тест-культури і ще інкубували впродовж наступних 24 год. У роботі [1] встановлено, що такого вирощування упродовж 48 год достатньо для формування біоплівки у лунках мікропланшету. Через 48 год культуральну рідину зливали, а в лунки мікропланшета (з попередньо сформованою на них біоплівкою тест-культури) вносили по 200 мкл препаратів ПАР різної концентрації (0,005–1,28 мг/мл). У контрольні варіанти (лунки) замість препаратів ПАР вносили стерильну водопровідну воду (200 мкл). Через 24 год експозиції лунки тричі промивали 200 мкл дистильованої води і визначали кількість адгезованих клітин спектрофотометричним методом так само, як і в дослідженнях антиадгезивних властивостей [4]. Ступінь руйнування біоплівки (%) визначали як різницю між адгезією клітин у необроблених і оброблених ПАР лунках полістиролового планшету.

Результати і обговорення. На першому етапі досліджували здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих на середовищах з різними джерелами вуглецевого живлення, руйнувати бактеріальні біоплівки *S. aureus* БМС-1, *E. coli* ІЕМ-1 та *B. subtilis* БТ-2. У процесі досліджень було встановлено, що всі препарати ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 незалежно від природи джерела вуглецю (етанол, гліцерин, *н*-гексадекан) і ступеня очищення (супернатант, розчин ПАР) за концентрації 0,04–1,28 мг/мл руйнували біоплівку *S. aureus* БМС-1 на 25–88 % (табл. 1), причому ступінь руйнування підвищувався зі збільшенням концентрації ПАР у препаратах. Зазначимо, що найвищий ступінь деструкції біоплівки *S. aureus* БМС-1 (88 %) досягався за наявності розчину ПАР (1,28 мг/мл), синтезованих на *н*-гексадекані.

На відміну від *S. aureus* БМС-1, ступінь руйнування біоплівки *E. coli* ІЕМ-1 за наявності препаратів ПАР у концентрації 0,04–1,28 мг/мл був нижчим і становив 25–53 % відповідно. Слід зазначити, що ефективнішими щодо *E. coli* ІЕМ-1 виявилися препарати ПАР, синтезовані на етанолі: максимальний ступінь деструкції після обробки супернатантом і розчином ПАР (1,28 мг/мл) становив 53 % і 49% відповідно.

Таблиця 1. Вплив препаратів ПАР A. calcoaceticus IMB B-7241, синтезованих на різних субстратах, на деструкцію біоплівки S. aureus БМС-1

Джерело вуглецю у середовищі	Препарати	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мг/мл)					
		0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
Етанол	супернатант	25	19	27	31	38	42
	розчин ПАР	31	35	46	50	54	54
Гліцерин	супернатант	31	42	54	58	62	65
	розчин ПАР	42	56	50	54	58	62
н-Гексадекан	супернатант	54	58	61	62	69	73
	розчин ПАР	58	65	67	69	73	88

Найвищий ступінь руйнування біоплівки *B. subtilis* БТ-2 (86−87 %) спостерігали за обробки розчинами ПАР (0,64 мг/мл), синтезованими на етанолі та очищеному гліцерині. Зазначимо, що й у разі використання відповідних супернатантів з такою самою концентрацією ПАР деструкція біоплівки *B. subtilis* БТ-2 була високою і досягала 83−84 %.

Зазначимо, що ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 є ефективнішими деструкторами бактеріальних біоплівок порівняно з рамноліпідами *Pseudomonas aeruginosa* LBI та сурфактином *B. subtilis* RT7 [1]. Так, препарати штаму IMB B-7241 навіть за концентрації 1,28 мг/мл руйнували біоплівку *S. aureus* на 88 %, у той час як ступінь деструкції біоплівки *S. aureus* за високої

концентрації рамноліпідів *P. aeruginosa* LBI (10 мг/мл) та сурфактину *B. subtilis* RT7 (5 мг/мл) становив всього 63 і 58 % відповідно.

На наступному етапі досліджували здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 руйнувати біоплівку *C. albicans* Д-6. Експерименти показали, що за дії ПАР (0,04−1,28 мг/мл) ПАР, синтезованих на етанолі, деструкція дріжджової біоплівки не відбувалася. ПАР, утворювані на гліцерині і *н*-гексадекані, у максимальній з досліджуваних концентрацій (1,28 мг/мл) спричиняли руйнування біоплівки на 13−42 % (табл. 2).

Таблиця 2. Ступінь руйнування біоплівки Candida albicans Д-6 за наявності ПАР A. calcoaceticus IMB B-7241

Джерело вуглецю в середовищі	Препарати	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мг/мл)					
		0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
Гліцерин	супернатант	–	–	–	–	13	13
	розчин ПАР	3	3	13	22	22	32
н-Гексадекан	супернатант	3	3	13	22	22	32
	розчин ПАР	13	13	22	32	32	42

Примітка. «–» − руйнування біоплівки не спостерігали

На останньому етапі досліджували здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих на технічному гліцерині, руйнувати біоплівки *B. subtilis* БТ-2 та *S. aureus* БМС-1. Дані, наведені у табл. 3, показують, що за наявності таких препаратів ПАР у концентрації 7−866 мкг/мл спостерігали руйнування біоплівки *B. subtilis* БТ-2 на 5−66 %, а *S. aureus* БМС-1 – на 21−71 %. Ззаначимо, що ступінь руйнування біоплівок тест-культур за дії ПАР, синтезованих на технічному гліцерині, підвищувався зі збільшенням концентрації поверхнево-активних речовин у препаратах.

Висновки. Одержані результати показують, що здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 до руйнування біоплівок залежить від умов

культивування продуцента, зокрема, від природи джерела вуглецю у поживному середовищі. Зазначимо, що у доступній літературі нам не вдалося знайти подібну інформацію. Використання технічного гліцерину як субстрату для культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 дозволяє вирішити ряд актуальних проблем: підвищити рентабельність виробництва біодизелю за рахунок утилізації побічного продукту, знизити собівартість ПАР, утилізувати токсичні відходи та отримати ПАР, які за здатністю руйнувати біоплівки не поступаються препаратам, синтезованим на традиційних субстратах.

Таблиця 3. Здатність препаратів ПАР A. calcoaceticus IMB B-7241, синтезованих на технічному гліцерині, руйнувати бактеріальні біоплівки

Тест-культура	Препарати	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мкг/мл)							
		7	14	27	54	108	217	433	866
Bacillus subtilis БТ-2	супернатант	21	27	30	32	36	38	43	66
	розчин ПАР	5	29	43	46	48	51	52	55
Staphylococcus aureus БМС-1	супернатант	26	31	37	49	46	60	70	63
	розчин ПАР	21	30	32	48	50	71	56	62

Список літератури

1. *Gomes M., Nitschke M.* Evaluation of rhamnolipid and surfactin to reduce the adhesion and remove biofilms of individual and mixed cultures of food pathogenic bacteria // Food Control. – 2012. – V. 25, № 2. – P. 441−447.

2. *Yang L., Liu Y., Wu H. Song Z., Høiby N., Molin S., Givskov M.* Combating biofilms // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2012. – V. 65, № 2. – P. 146–157.

3. *Pirog T.P., Savenko I.V., Lutsay D A.* Microbial surface-active substances as antiadhesive agents // Biotechnologia acta. − 2016. − V. 9, № 3. P. 7−22.

4. *Pirog T., Shulyakova M., Sofilkanych A., Shevchuk. T., Maschenko O.* Biosurfactant synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac -5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 on byproduct of biodiesel product // Food Bioprod. Proces. − 2015. – Vol. 93, № 1. – P. 11−18.

БІОСТИМУЛЯЦІЯ РОСТУ КУЛЬТИВОВАНИХ *IN VITRO* «БОРОДАТИХ» КОРЕНІВ *ARTEMISIA VULGARIS* L.

Надія Матвєєва, Катерина Дробот

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, м. Київ

Анотація. Досліджено можливість прискорення росту культури «бородатих» коренів рослин *Artemisia vulgaris* L. при додаванні до живильного середовища синтетичних ауксинів та полікомпонентних препаратів природного походження - індоділоцтової та індоділмасляної кислот, Емістиму С (продукт біотехнологічного вирощування грибів-епіфітів з кореневої системи лікарських рослин) та Стимпо (полікомпонентний препарат біологічного походження, який містить ненасичені жирні кислоти, вуглеводи, аналоги натуральних фітогормонів, біогенні мікроелементи, аверсектини) ТМ «Агробіотех». Визначено, що застосування індоділоцтової та індоділмасляної кислот дозволяє пришвидшити ріст «бородатих» коренів, причому такий ефект спостерігався для усіх ліній коренів, які використовували у експериментах.

Ключові слова: *Artemisia vulgaris* L., культура «бородатих» коренів, стимулятори росту.

Вступ. «Бородаті» корені – це корені, які формуються на рослинах при їх інфікуванні грунтовими бактеріями *A. rhizogenes.* Ці бактерії мають природну здатність переносити частину свого геному, зокрема, гени, які кодують синтез ауксинів, до геному рослин [1]. Така природна здатність агробактерій використовується у біотехнологічних дослідженнях для отримання культури «бородатих» коренів, які відрізняються гормононезалежним ростом, досить значним галуженням та негативним геотропізмом [2]. Інтерес до отримання таких коренів пов’язаний передусім з тим, що їх клітини здатні синтезувати ті сполуки, які є властивими для рослин певного виду, у тому числі сполуки, які є біологічно активними та можуть застосовуватися для лікування захворювань.

Заслуговує на увагу спрямованість біотехнологічних досліджень на отримання культури «бородатих» коренів лікарських рослин. Це зумовлено тим, що такі корені синтезують не тільки природні для рослин сполуки, але й рекомбінантні біологічно активні сполуки [3].

До рослин, які становлять інтерес як джерело БАС, належать трав'янисті рослини роду *Artemisia*, поширені у Європі, Америці, Центральній Азії, на півночі Африки та є досить відомими у народній медицині. Метою більшості досліджень з генетичної трансформації цих видів рослин було розроблення протоколу трансформації та створення рослин чи культури коренів з підвищеним вмістом артемізиніну, сполуки з антималярійними властивостями [4]. Важливим етапом досліджень, спрямованих на отримання культури «бородатих» коренів для продукування БАС є відбір ліній, які відрізняються швидким приростом біомаси. У ряді досліджень, зокрема, проведених на *A. annua*, *A. dubia, A. annua, A. absinthium, A. aucheri, A. indica*, *A.vulgaris* було визначено особливості впливу таких чинників як склад живильного середовища (концентрація та наявність макро- та мікросолей, концентрація сахарози) на швидкість росту трансгенних коренів [5-7].

Разом з тим, відомо, що синтетичні регулятори росту, зокрема, індолілмасляна кислота, також впливають на ріст коренів [8, 9]. Крім того, визначено, що композиції, які складаються зі сполук природного походження, також виявляють стимулюючу дію. Зокрема, нами раніше визначено, що використання природних регуляторів росту Чаркор, Емістим С, Біолан вироництва фірми «Агробіотех» призводило до неспецифічного впливу та збільшення маси «бородатих» коренів цикорію при їх вирощуванні на агаризованому середовищі [10].

Метою даної роботи було визначення можливості прискорення росту культури «бородатих» коренів рослин *Artemisia vulgaris* L. при додаванні до живильного середовища як синтетичних ауксинів, так і регуляторів природного походження - індоділоцтової (ІОК) та індоділмасляної (ІМК) кислот, Емістиму С (продукт біотехнологічного вирощування грибів-епіфітів з кореневої системи лікарських рослин) та Стимпо (полікомпонентний препарат біологічного

походження, який містить ненасичені жирні кислоти, вуглеводи, аналоги натуральних фітогормонів, біогенні мікроелементи, аверсектини) ТМ «Агробіотех».

Матеріали та методи досліджень. У експериментах використовували отримані нами раніше трансгенні корені *A. vulgaris* [11]. Термінальні частини коренів довжиною 10 мм з точкою росту відокремлювали та переносили на поверхню агаризованого живильного середовища ½ МС [12], до якого додавали регулятори росту: 0,5 мг/л індоділоцтової кислоти; 0,5 мг/л індоділмасляної кислоти; 0,05 мкл/л Емістиму С та 0,05 мкл/л Стимпо. Корені вирощували при температурі +24°С протягом трьох тижнів. Для визначення приросту маси отримані корені зважували, приріст маси Δm визначали за формулою $\Delta m=m_1-m_0$, де m_0 – початкова маса, m_1 – маса через три тижні. У якості контролю використовували корені, які культивували на живильному середовищі 1/2МС без додавання регуляторів росту. Експерименти проводили у трьох повторностях.

Результати та обговорення. У результаті проведених експериментів встановлено, що різні лінії трансгенних коренів відрізнялися за швидкістю росту при їх культивуванні на контрольному середовищі без регуляторів (рис. 1). Так, приріст маси коренів лінії №1 через три тижні культивування на середовищі, що не містило регуляторів росту, становив 0,85±0,05 г, а приріст маси коренів лінії №3 був у вісім разів меншим та становив 0,11±0,01 г. Відомо, що такі особливості фізіології культур «бородатих» коренів пов’язані з тим, що *rol* гени агробактерій можуть вбудовуватися, так само як і інші гени при трансформації ядерної ДНК, у різні частини геному, а їх активність може значно варіювати. Цей феномен дозволяє відібрати лінії, які характеризуються найбільшим приростом маси.

Вирощування трансгенних коренів на живильному середовищі з 0,5 мг/л α-нафтилоцтової кислоти призводило до суттєвого прискорення росту та збільшення маси, причому такий ефект спостерігали при вирощуванні усіх ліній коренів за виключенням лінії №7. Збільшення приросту маси за використання індолілоцтової кислоти у порівнянні з контролем (1/2МС)

становило 1,3 - 14,2 рази. Слід відзначити, що найбільший приріст маси спостерігали у коренів лінії № 3, які росли найбільш повільно за контрольних умов.

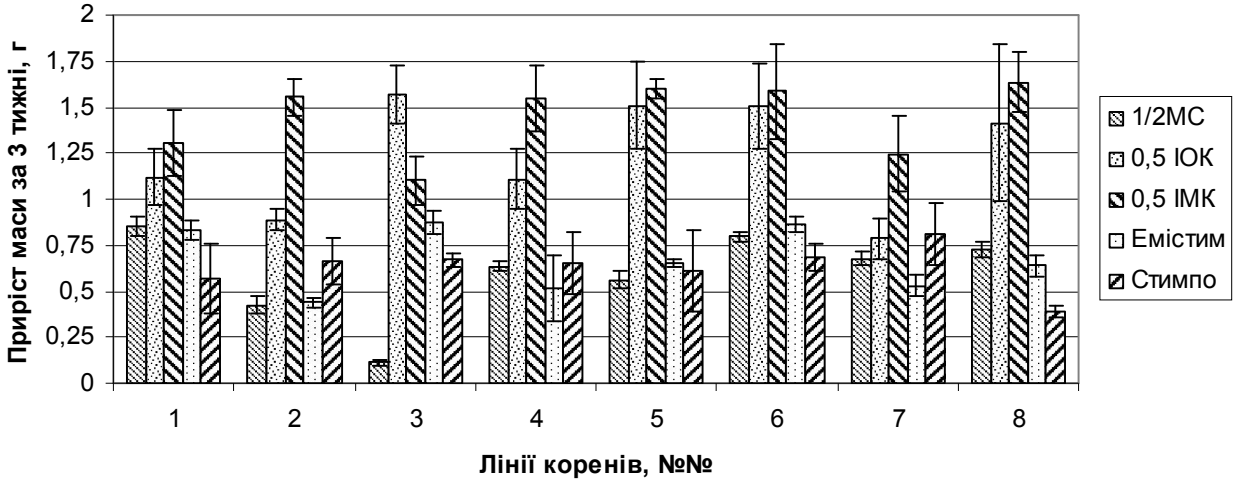


Рис. 1. Вплив регуляторів росту індоділоцтової кислоти, індоділмасляної кислоти, Емістиму С та Стимпо на приріст маси «бородатих» коренів рослин *A. vulgaris*

Визначено, до додавання до живильного середовища 0,5 мг/л індоділмасляної кислоти також сприяло прискоренню росту «бородатих» коренів. Цей ефект спостерігали на усіх досліджених лініях коренів. Маса коренів через три тижні збільшувалася у 1,5–9,9 рази у порівнянні з контролем у залежності від лінії коренів.

Використання регуляторів Емістим та Стимпо для більшості ліній не призводило до стимулювання росту коренів за виключенням коренів лінії №3. Для ліній №№ 1, 2, 4, 5, 6 та 7 достовірні відмінності за параметром швидкості росту від контролю відсутні, а культивування коренів лінії №8 у присутності Стимпо навіть призводило до зменшення приросту у порівняння з контролем. Разом з тим, виявлено, що регулятори Емістим С та Стимпо у значному ступені прискорювали ріст коренів лінії №3 у порівнянні з контролем – у 7,9 та 6,1 рази відповідно. Ефект відсутності стимулюванні росту більшості ліній трансгенних коренів при додаванні до живильного середовища Емістиму С та Стимпо є

досить очікуваним, оскільки, за рекомендаціями фірми-виробника ці препарати використовують для біозахисту рослин від шкідників, підвищення урожайності [Інтернет-ресурс: http://www.agrobiotech.com.ua/ua/]. Разом з тим, привертає увагу той факт, що при використанні Емістиму С та Стимпо спостерігали значне пришвидшення росту «бородатих» коренів однієї з ліній, причому за контрольних умов саме ця лінія характеризувалася найбільш повільним ростом. Отже, вірогідно, що за певних умов ці регулятори також можуть впливати і на ріст кореневої системи рослин, прискорюючи її формування.

Висновки. Результати проведених досліджень показали, що отримані раніше лінії «бородатих» коренів рослин *A. vulgaris* значно відрізняються за швидкістю росту. Ці лінії також відрізнялися за чутливістю до регуляторів росту рослин. Так, корені одної з ліній прискорювали ріст при використанні як синтетичної сполуки, так і при використання регуляторів росту природного походження.

Доведено, що застосування індолілоцтової та індолілмасляної кислоти до живильного середовища 1/2МС дозволяє прискорити ріст «бородатих» коренів *A. vulgaris* до 14,2 та 9,9 разів відповідно, що може бути використано для отримання біомаси трансгенних коренів рослин цього виду при їх вирощуванні для продукування біологічно активних сполук.

Список літератури

1. *Michael T., Spena A*. The plant oncogenes *rol* A, B, and C from *Agrobacterium rhizogenes*: effects on morphology, development, and hormone metabolism // Meth. Mol. Biol. – 1995. – Vol. 44, № 1. – P. 207–222

2. *Nilsson O., Olsson O*. Getting to the Root: The Role of the *Agrobacterium rhizogenes rol* Genes in the formation of hairy roots // Physiol. Plant. – 1997. – Vol. 100, №3. – P. 463–473

3. *Srivastava S., Srivastava A.* Hairy root culture for mass-production of high-value secondary metabolites // Crit Rev. Biotechnol. – 2007. – Vol. 27, № 1. – P. 29–43

4. *Tang K., Shen Q., Yan T., Fu X.* Transgenic approach to increase artemisinin content in *Artemisia annua* L. // Plant Cell Rep. – 2014. – Vol. 33, № 4. – P. 605–615

5. *Sujatha G., Zdravković-Korać S., Ćalić D*. High-efficiency *Agrobacterium rhizogenes*-mediated genetic transformation in *Artemisia vulgaris*: Hairy root production and essential oil analysis // Ind. Crops Prod. – 2013. – Vol. 44. – P. 643–665.

6. *Mannan A., Shaheen N., Arshad W.* Hairy roots induction and artemisinin analysis in *Artemisia dubia* and *Artemisia indica* // Afr. J. Biotechnol. – 2008. – Vol. 7, № 18. – P. 3288–3292.

7. *Nin S., Bennici G., Roselli D. Agrobacterium*-mediated transformation of *Artemisia absinthium* L. (wormwood) and production of secondary metabolites // Plant Cell Rep. – 1997. – Vol. 16, № 10. – P. 725–730

8. *Sevik H., Guney K*. Effects of IAA, IBA, NAA, and GA3 on Rooting and Morphological Features of *Melissa officinalis* L. Stem Cuttings // The Scientific World Journal. – 2013. – Article ID 909507.

9. *Wang H-Y., He S-L., Tanaka M., Thanh Van P., Jaime A., Teixeira da Silva*. Effect of IBA concentration, carbon source, substrate, and light source on root induction ability of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) Plantlets *in vitro* // European Journal of Horticultural Science – 2012. – Vol. 77, №. 3. – P.122–128.

10. *Матвєєва Н.А., Циганкова В.А., Чапкевич С.Е., Кучук М.В., ПономаренкоС.П.* Використання регуляторів росту рослин для інтенсифікації росту біомаси та підвищення вмісту поліфруктанів в культурі «бородатих коренів» цикорію // Вісник Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2012. – Т.10, №2. – С.269–278.

11. *Дробот К.О., Шаховський А.М., Матвєєва Н.А.* Отримання культури «бородатих» коренів рослин полину звичайного з використанням *Agrobacterium rhizogenes* з геном *ifn-α2b* людини // Фактори експериментальної еволюції організмів Збірник наукових праць – 2015 – № 17. – С.145–147.

12. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, № 3. – P. 473−497.

Публікація містить результати досліджень, проведених при грантовій підтримці Держаного фонду фундаментальних досліджень за конкурсним проектом №Ф73/83-2016.

ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСОВ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ

Валентин Моцар, Ирина Волошина

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

Abstract. Currently, there has been spate of scientific publications and patents, connected with investigation and practical use of cyclodextrins in pharmacy. However, analysis of the literature in that respect allows for the conclusion about variety of advantages obtained drug products by complexation with cyclodextrins. As can be seen from the above, in this investigation was discussed issues surrounding with using cyclodextrins in pharmacy, for improving physicochemical, biopharmaceutical of drug products.

Keywords: cyclodextrins, pharmacy, solubility, inclusion complex, bioavailability.

Введение. Современные технологии и многообразие вспомогательных веществ с широкими параметрами свойств позволяют в значительной степени варьировать характеристики лекарственных веществ при включении их в лекарственную форму, обеспечивая направлены разработки компонентов и технологий для создания лекарственных препаратов с желаемыми фармакокинетическими и терапевтическими свойствами [1].

Одной из основных биофармацевтических характеристик, во многом определяет биоэквивалентность препарата, считается растворимость лекарственного вещества [1, 2]. Растворимость во многом определяет возможность создания лекарственной формы с эффективной дозой лекарственного средства, кинетика высвобождения его из лекарственной формы, скорость и полноту всасывания.

Особенно это касается растительных биологически активных веществ липофильной природы (эфирных и жирных масел, терпеноидов,

жирорастворимых витаминов, каротиноидов, стероидов), а также более полярных, но труднорастворимых в воде, соединений (флавоноидов, оснований алкалоидов, сердечных гликозидов, кумаринов, иридоцитов т.д.) [3, 5].

Решение проблемы растворимости является достаточно сложной технологической задачей. Физико-химические свойства биологически активных соединений могут быть модифицированы с использованием различных методов и технологических приемов. В фармацевтической промышленности при производстве новых лекарственных форм широко используются различные пути повышения растворимости лекарственных веществ: использование специальных вспомогательных веществ — промоторов всасывания, солюбилизация, получение твердых дисперсных систем, включение в липосомы, нанокапсулы и другие [2, 3]. К числу таких методов относится также включение лекарственных средств в комплекс циклодекстрина [5, 7].

Изложение основного материала. Циклодекстрины - углеводы, циклические олигомеры глюкозы, которые получают ферментативным путем из крахмала, так как химический синтез очень сложный и экономически не выгоден. Биохимический синтез циклодекстринов осуществляется из крахмала исключительно с помощью фермента циклодекстринглюканотрансферазы (ЦГТ-азы), который осуществляет гидролиз линейных и циклических поли-1,4-α-глюканов, циклизации и конденсацию олиго- 1,4-α-глюканов с образованием α-, β-, γ-циклодекстринов (ЦД), содержащих соответственно 6, 7 и 8 остатков α-D-глюкозы [4, 6]. Их образование со степенью полимеризации меньше 6 невозможно. Как правило, при гидролизе крахмала, амилозы или амилопектина ЦГТ-азой образуется смесь всех трех ЦД в различных соотношениях. Поэтому ЦГТ-азы подразделяются на α-, β-, γ- специфические, в зависимости от того, какой вид ЦД преимущественно синтезируется в процессе образования [4].

Наибольший практический интерес представляют три первых возможных гомолога с n=6,7,8, которые обладают фиксированной конформацией [6] Структура трёх основных видов циклодекстринов представлена на рис. 1

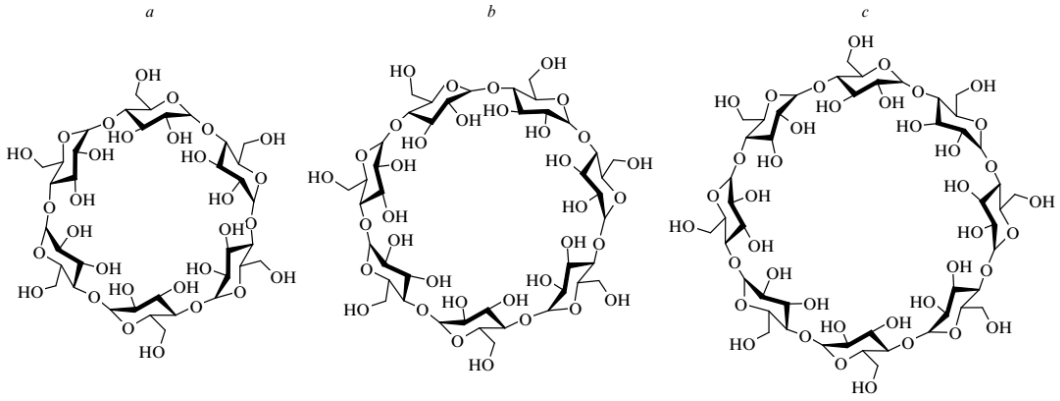


Рис. 1. Строение молекул циклодекстринов: *α* -циклодекстрин (a); *β* -циклодекстрин (b); *γ* -циклодекстрин (c).

Так, простейший представитель – α-циклодекстрин – состоит из 6 глюкопиранозных звеньев. *β*-циклодекстрин содержит 7, а *γ*-циклодекстрин – звеньев. Именно эти три типа наиболее распространены и исследованы. Все циклодекстрины представляют собой белые кристаллические порошки, нетоксичные, практически не имеющие вкуса [4].

Циклодекстрины, в результате уникального строения (гидрофильная поверхность и гидрофобный внутренне молекулярная полость), в жидком или твердом состоянии способны образовывать комплексы включений с различными органическими и неорганическими молекулами. Эти соединения обнаруживают новые физико-химические свойства, не характерные для веществ отдельно и способны проявлять такие изменения, как устойчивость к нагреванию и окислению, увеличение растворимости и т.д. [2, 5].

Включение молекулы лекарственного вещества в молекулу циклодекстрина является по сути молекулярной капсуляцией, что приводит к значительным изменениям физико-химических, а также биологических свойств молекулы лекарственного вещества, а именно: увеличение стабильности молекул, снижение летучести, улучшения их растворимости и биодоступности [1]. Такой механизм образования включений называется «хозяин - гость». В свободном состоянии полость циклодекстрина заполнена водой, которая

вытесняется гидрофобной составом. Гидрофобная молекула ориентируется так, чтобы контакт между ее гидрофобной частью и полостью циклодекстрина был максимальный. Гидрофильная часть молекулы остается вне полости циклодекстрина, обеспечивая контакт с гидроксильными группами циклодекстрина, что объясняет наличие водородных связей. Таким образом, взаимодействие циклодекстрина с лекарственными веществами происходит за счет гидрофобного взаимодействия, ван-дер-ваальсовых сил и образования водородных связей [3, 7].

Перспективы применения комплексов включения в фармации, в основном, связаны с изменением биофармацевтических и физических свойств лекарственных веществ. При комплексообразовании происходит маскировки неприятного запаха и вкуса, изменение агрегатного состояния, повышение растворимости в воде липофильных веществ, биодоступности и фармакологической активности, наблюдается пролонгирование терапевтического действия и ослабление нежелательных побочных эффектов лекарственных веществ. В комплексе включения повышается устойчивость веществ к воздействию факторов окружающей среды: температуры, света, окислителей [1, 3].

Так, при включении в комплекс включения валидола устраняется специфический запах препарата, повышается его устойчивость. Для экстрактов женьшеня и лука путем комплексообразования корректируется запах и вкус [2], *β*-циклодекстрин и его производные в комплексе включения ингибируют процесс фотохимического разложения нитроглицерина и ретинола ацетата [3]. Кроме этого, комплекс включения с нитроглицерином хорошо таблетируется.

Циклодекстрины также используются для стабилизации простагландинов, которые в качестве активного вещества содержат альпростадил, включенный в комплекс с *β*-циклодекстрином [3]. Из литературы также известно, что комплексообразования с хлорамбуцилом приводит к

заметному снижению скорости его гидролитического расщепления, тормозит окисление простагландинов и колекальциферола [1].

Также в литературе встречается информация о применении модифицированных циклодекстринов в композиции с поверхностно-активными веществами при создании устойчивых пролонгированных лекарственных форм для парентерального, энтерального и трансдермального применения [5].

Много литературы посвящено изучению солюбилизации лекарственных веществ с комплексом *β*-циклодекстрина и его производных. Примером является включение в комплекс *β*-циклодекстрина с индометацином повышается растворимость последнего. В процессе комплексообразования с *β*-циклодекстрином повышается гидрофильность ряда стероидных соединений [4, 6].

При изучении свойств комплекса включения *β*-циклодекстрина с лекарственными веществами *in vitro* методом диализа через полупроницаемую мембрану известно о повышении их растворимости, что приводит к увеличению биодоступности препарата [7].

Противовоспалительная активность кортизона ацетата в комплексе включения с *β*-циклодекстрином, как установлено в опытах *in vivo*, повышается в 4 раза [2].

В литературе описаны многочисленные исследования, посвященные образованию комплексов включения карбамазепина с *β*- и *γ*-циклодекстрином, в результате чего данные комплексы обладают повышенной биодоступностью, у них значительно снижены побочные эффекты, присущие препарата [5].

Выводы. Комплексы циклодекстринов с биологически активными молекулами, благодаря интересу фармацевтических компаний, представляют собой одни из наиболее интенсивно исследуемых объектов химии соединений включения за последние годы. Перспективы применения комплексов включения в медицине, в основном, связаны с изменением биофармацевтических и физических свойств лекарственных веществ. При

комплексообразовании происходит маскировки неприятного запаха и вкуса, изменение агрегатного состояния, повышение растворимости в воде липофильных веществ, биодоступности и фармакологической активности, наблюдается пролонгирование терапевтического действия и ослабление нежелательных побочных эффектов лекарственных веществ. В комплексе включения повышается устойчивость веществ к воздействию факторов окружающей среды: температуры, света, окислителей [5, 7]

Список литературы

1. *Астахова А. В., Демина Н. Б.* Современные технологии лекарственных форм: получение. Исследование и применение комплексов включения лекарственных веществ с циклодекстринами (обзор)// Химико-фармацевтический журнал. – 2004. –№2. – С. 46-49.

2. *Омельченко И.А., Ярных Т.Г., Борщевский Г.И., Борщевская М.И.*, Использование циклодекстринов в фармацевтической технологи// Ліки України. – 2015. – №1. – С. 54–57.

3. *Szejtli J.* Past, present, and future of cyclodextrin research. // Pure Appl. Chem. – 2004. –V. 76. – P. 1825–1845.

4. *Варламов В.П.* Ферментные системы и технологии получения циклодекстринов // В мире науки. – 2006. – № 11. – С. 80–82.

5. *Федорова П.Ю., Аддресон Р.К., Алехин Е.К., Усанов Н.Г.*. Природные циклические олигосахариды – циклодекстрины в системах доставки лекарств// Медицинский вестник Башкортостана.– 2011. – №4. – С. 125–131.

6. *Абелян В.А.* Циклодекстрини: Отримання і застосування. – М.: Дім «Ван-Арьян», 2001. – 519 с.

7. *Войно Л. И, Малахова Э. А., Шостак Л.М.* Циклодекстрины и комплексы включения, их свойства и возможность использования // Естественные и технические науки. – 2008. – №33. – С. 321–323.

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *NOCARDIA VACCINII* ІМВ В-7405, СИНТЕЗОВАНИХ НА ПРОМИСЛОВИХ ВІДХОДАХ

Лілія Никитюк

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Abstract. The possibility of replacing traditional substrates on refried oil and technical glycerol for the biosynthesis of *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 surfactants with high antimicrobial and antiadhesive activity was established. Adhesion of bacteria and yeast was 22–66 % after treatment of abiotic surfaces with surfactants (0,02−0,04 mg/ml), synthesized on industrial waste and the minimum inhibitory concentration (MIC) these surfactants against bacteria and yeast did not exceed 8−121 μg/ml, and was lower than that preparations obtained on refined oil and glycerol.

Keywords: *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, surfactants, industrial waste, antimicrobial and antiadhesive properties

Вступ. Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР), яким притаманний широкий спектр біологічних властивостей, розглядаються нині як альтернативна заміна синтетичним ПАР [1].

Зазначимо, що мікробні ПАР є вторинними метаболітами і, як правило, синтезуються у вигляді комплексу подібних сполук (аміно-, гліко-, фосфо- і нейтральних ліпідів) [2]. Нещодавно у літературі стали з’являтися поодинокі повідомлення про те, що біологічні властивості мікробних ПАР можуть змінюватися залежно від природи джерела вуглецю у середовищі культивування продуцента [3].

У попередніх дослідженнях було встановлено, що за умов росту на гідрофільних (етанол, гліцерин) та гідрофобних (рідкі парафіни, н-гексадекан) субстратах *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 синтезує комплекс ПАР (гліко-, аміно-

та нейтральних ліпідів), що проявляють антимікробні та антиадгезивні властивості [4]. Пізніше було встановлено можливість заміни очищеного гліцерину і рафінованої соняшникової олії для синтезу ПАР штаму ІМВ В-7405 на технічний гліцерин (відхід виробництва біодизелю) та пересмажену соняшникову олію [5].

У зв'язку з викладеним вище мета даної роботи – дослідження антимікробних та антиадгезивних властивостей поверхнево-активних речовин, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на промислових відходах.

Матеріали і методи досліджень. *N.vaccinii* ІМВ В-7405 вирощували в рідкому мінеральному середовищі, що містило як джерело вуглецю рафіновану соняшникову олію «Олейна» (Дніпропетровський олійно-екстракційний завод), а також відпрацьовану після смаження картоплі і м'яса олію (мережа ресторанів швидкого харчування Mcdonald's, Київ), очищений та технічний гліцерин (Комсомольський біопаливний завод, Полтавська обл.) у концентрації 2 % (об'ємна частка).

Як посівний матеріал використовували культуру в експоненційній фазі, вирощену на середовищі наведеного складу з 0,5% відповідного субстрату. Інокулят, в якому чисельність бактерій становила 10^4–10^5 кл/мл, вносили у кількості 10% від об'єму середовища. Культивування здійснювали у 750 мл колбах з 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30ºС упродовж 5 діб.

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини (препарат 2), екстраговані з супернатанту (препарат 1) сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1) як описано у наших попередніх роботах [4, 5].

Антимікробні властивості поверхнево-активних речовин аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Визначення МІК здійснювали методом двократних серійних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) для бактерій і рідкому суслі для дріжджів як описано нами раніше [6].

Визначення антиадгезивних властивостей ПАР здійснювали як описано у

наших попередніх дослідженнях [4]. Кількість адгезованих клітин (адгезія) визначали спектрофотометричним методом як відношення оптичної густини суспензії, одержаної з оброблених препаратами ПАР (супернатант, розчин ПАР) матеріалів (пластик, кахель, сталь, лінолеум) до оптичної густини контрольних зразків (без обробки ПАР) і виражали у відсотках.

Як тест-культури під час визначення антимікробних та антиадгезивних властивостей ПАР використовували штами бактерій *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2 (спори та вегетативні клітини) і дріжджів *Candida albicans* Д-6 з колекції живих культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій.

Результати і обговорення. На першому етапі досліджень встановлювали «ефективну» концентрацію поверхнево-активних речовин *N.vaccinii* IMB B-7405, що забезпечувала мінімальну адгезію тест-культур на абіотичних поверхнях, попередньо оброблених ПАР.

Для прикладу у табл. 1 наведено дані щодо адгезії спор *B. subtilis* БТ-2 на абіотичних поверхнях, оброблених препаратами поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* IMB B-7405. Так адгезія спор *B. subtilis* БТ-2 була мінімальною (26−50%) на усіх поверхнях, оброблених розчином ПАР, отриманих на відпрацьованій після смаження картоплі олії та технічному гліцерині. Аналогічні закономірності спостерігали щодо адгезії клітин бактерій *E. coli* IEM-1 та дріжджів *C. albicans* Д-6. Експериментальні дані показали, що особливої різниці між адгезією тест-культур після обробки поверхонь розчином ПАР та супернатантом не виявлено, що вказує на можливість виключення додаткових стадій очищення цільового продукту та зниження його собівартості.

Зазначимо, що у літературі відомості про антиадгезивні властивості ПАР, синтезованих на олієвмісних промислових відходах та пересмаженій олії, є вкрай обмеженими. У роботі [7] повідомляється про синтез *Candida lipolytica* UCP0988 ПАР руфісану на відходах виробництва соєвої олії. Руфісан (0,75 мг/л) знижував адгезію бактерій роду *Streptococcus* і *Lactobacillus* на

полістиролових пластинках, адгезії тест-культур становиа 61–91 %. Із збільшенням концентрації ПАР у розчині до 12 мг/л руфісан знижував кількість прикріплених клітин *E. coli* і *C. albicans* на 21–51 %. Пробіотичний штам *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* PTCC 1674 за умов росту на різних субстратах, у тому числі й на відпрацьованій соняшниковій олії, синтезував ПАР, який у концентрації 10 мг/мл знижував кількість прикріплених на пластику клітин *E. coli* на 13 %, а *Staphylococcus aureus* – на 37 % [8].

Таблиця 1. Вплив ПАР N. vaccinii IMB B-7405, синтезованих на промислових відходах, на прикріплення B. subtilis БТ-2 до абіотичних поверхонь

Субстрат для синтезу ПАР	Препарат	Адгезія, %			
		пластик	кахель	сталь	лінолеум
Рафінована олія	1 Супернатант	71	70	63	49
	2 Розчин ПАР	56	48	51	49
Олія після смаження м’яса	1 Супернатант	74	62	73	52
	2 Розчин ПАР	62	67	76	49
Олія після смаження картоплі	1 Супернатант	28	60	44	44
	2 Розчин ПАР	26	50	44	50
Очищений гліцерин	1 Супернатант	35	63	47	38
	2 Розчин ПАР	53	59	39	41
Технічний гліцерин	1 Супернатант	28	50	66	29
	2 Розчин ПАР	39	41	38	29

Примітка. Концентрація розчинів ПАР (мг/мл), синтезованих на олії: рафінованій – 0,01; відпрацьованій після смаження м’яса – 0,02; відпрацьованій після смаження картоплі − 0,04, гліцерині: технічному – 0,02; очищеному – 0,04. При визначенні адгезії похибка не перевищувала 5 %.

На наступному етапі досліджували антимікробну активність ПАР *N.vaccinii* IMB B-7405, утворюваних на рафінованій і відпрацьованій олії, а

також на технічному та очищеному гліцерині (табл. 2).

Дані, наведені у табл. 2, засвідчують, що мінімальна інгібуюча концентрація щодо усіх досліджуваних тест-культур (за винятком спор *B. subtilis* БТ-2) поверхнево-активних речовин, синтезованих на відпрацьованій після смаження картоплі олії, становила 8−52 мкг/мл і була нижчою, ніж МІК препаратів, одержаних на рафінованій (18−85 мкг/мл) і відпрацьованій після смаження м'яса (14−142 мкг/мл) олії. Значення мінімальної інгібуючої концентрації ПАР *N.vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на відпрацьованій олії, є порівняними з встановленими для відомих з літератури мікробних ПАР [9].

Таблиця 2. Антимікробна активність поверхнево-активних речовин N. vaccinii IMB B-7405, синтезованих на промислових відходах

Субстрат для синтезу ПАР	Тест-культура	МІК, мкг/мл
Рафінована олія	*B. subtilis* БТ-2 (вегетативні клітини)	21
	B. subtilis БТ-2 (спори)	21
	E. coli ІЕМ-1	10
	C. albicans Д-6	42
Відпрацьована після смаження м'яса олія	*B. subtilis* БТ-2 (вегетативні клітини)	71
	B. subtilis БТ-2 (спори)	142
	E. coli ІЕМ-1	35
	C. albicans Д-6	71
Відпрацьована після смаження картоплі олія	*B. subtilis* БТ-2 (вегетативні клітини)	16
	B. subtilis БТ-2 (спори)	67
	E. coli ІЕМ-1	8
	C. albicans Д-6	33
Очищений гліцерин	*B. subtilis* БТ-2 (вегетативні клітини)	22,5
	B. subtilis БТ-2 (спори)	45
	E. coli ІЕМ-1	180
	C. albicans Д-6	22,5
Технічний гліцерин	*B. subtilis* БТ-2 (вегетативні клітини)	15
	B. subtilis БТ-2 (спори)	15
	E. coli ІЕМ-1	121
	C. albicans Д-6	15

Примітка. під час визначення мінімальної інгібуючої концентрації похибка не перевищувала 5%.

Дослідження біологічних властивостей поверхнево-активних речовин, синтезованих на відходах виробництва біодизелю показало, що ефективними антимікробними агентами щодо усіх тест-культур (окрім клітин *E. coli* ІЕМ-1) виявилися ПАР, синтезовані на технічному гліцерині: мінімальна інгібуюча концентрація становила 15–121 мкг/мл, і була на порядки нижчою, ніж МІК, утворюваних на очищеному субстраті (22,5–180 мкг/мл).

Зазначимо, що з кожним роком кількість публікацій, присвячених біосинтезу мікробних ПАР на технічному гліцерині, збільшується [5], проте у доступній літературі нам не вдалося знайти інформацію про антимікробні чи антиадгезивні властивості поверхнево-активних речовин, синтезованих на цьому субстраті.

Висновки. Отже, наведені результати показують можливість використання промислових відходів для синтезу ПАР *N.vaccinii* IMB B-7405 з високою антиадгезивниою та антимікробною активністю. Крім того, ці дані засвідчують, що біологічні властивості мікробних ПАР залежать від природи джерела вуглецю у середовищі культивування продуцента, що потрібно враховувати під час розробки технологій одержання цільового продукту з необхідними для практичного використання властивостями.

Список літератури

1. *Пирог Т.П., Конон А.Д., Скочко А.Б.* Використання мікробних поверхнево-активних речовин у біології та медицині // Біотехнологія. – 2011. – Т. 4, № 2. – С. 24–38.

2. *Marchant R., Banat M.I.* Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants // Biotechnol. Let. – 2012. – Vol. 34, N 9. – P. 1597–1605

3. *Singh A.K., Rautela R., Cameotra S.S.* Substrate dependent in vitro antifungal activity of *Bacillus* sp. strain AR2 // Microb. Cell. Fact. – 2014. – 13:67. – doi: 10.1186/1475-2859-13-67.

4. *Пирог Т.П., Конон А.Д., Берегова Х. А, Шулякова М. А.* Антиадгезивные свойства поверхностно-активныхвеществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB AC-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Микробиология. – 2014. – Т. 83, № 6. С. 631–639.

5. *Пирог Т.П., Софілканич А.П., Конон А.Д., Гриценко Н.А.* Біосинтез поверхнево-активних речовин на промислових відходах // Biotechnologia Acta. – 2014. – Т. 7, N 5. С. 9–26.

6. *Pirog T.P., Beregova K.A., Savenko I.V., Shevchuk T.A., Iutynska G.O.* Antimicrobial action of *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 surfactants // Microbiol. Zh. – 2015.Vol. 78, N 6. – P.2−10.

7. *Rufino R. D., Luna J. M., Sarubbo L. A*. Antimicrobial and anti-adhesive potential of a biosurfactant Rufisan produced by *Candida lipolytica* UCP 0988 // Coll. Surf. B. Biointerfaces. – 2011.− Vol. 84, N 1. – P. 1–5.

8. *Hajfarajollah H., Mokhtarani B., Noghabi K.A*. Newly antibacterial and antiadhesive lipopeptide biosurfactant secreted by a probiotic strain, *Propionibacterium freudenreichii* // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2014. – Vol. 74, N 8. – P. 2725−2740. – doi: 10.1007/s12010-014-1221-7.

9. *Cortes-Sanchez A., Hernandez-Sanchez H., Jaramillo-Flores M.* Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives // Microbiol. Rec. – 2013. – Vol. 168, N 1. – P. 22–32.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВПЛИВУ РІЗНИХ ФОРМ ВІТАМІНІВ А, D_3, Е НА АКТИВНІСТЬ Т- І В-КЛІТИННОЇ ЛАНОК ІМУНІТЕТУ ПОРОСЯТ

Наталія Огородник

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Abstract. The results of researches of T- and B-cellular of links of the immunity of piglets after weaning from sows for the actions of preparations «Trivit» and «Lipovit» are presented in the article. It is set that introduction the piglets of preparations «Trivit» and «Lipovit» in the day of weaning from sows increases the amount of theophyllinum of resistance T-lymphocytes and B-lymphocytes in the blood. Use of vitamins A, D_3, E in form liposomal emulsion (preparation of «Lipovit») is more effective for forming of nocifensors in the organism of piglets, than introduction of preparation «Trivit».

Keywords: piglets, immunity, vitamins A, D_3, E, T- and B-lymphocytes.

Вступ. Науково-практичний напрям у вивченні властивостей ліпосомальних емульсій відкрив широкі можливості для розробки нових лікарських препаратів і їх впровадження у різні галузі біології та медицини [1, 2]. Специфічна структура й фармакологічні якості ліпосом, здатність утримувати у водній і ліпідній фазі речовини з різними фізико-хімічними властивостями, вирізняє їх як ефективних носіїв лікарських субстанцій, а їх біологічна сумісність з клітиною забезпечує кращий контакт між діючою речовиною та клітинними мембранами організму [3]. Ліпосоми з успіхом використовуються в якості своєрідного контейнеру, в який можна поміщати неорганічні іони, низькомолекулярні органічні сполуки, протеїни й нуклеїнові кислоти [4]. Ліпосомальні препарати запобігають передчасній інактивації включених до їх складу речовин у кров’яному руслі й за його межами [5]. Вони

довше залишаються стабільними, виконують роль депо, з якого діючі речовини вивільняються частково, у потрібних дозах і впродовж необхідного часу [6, 7]. Проте у ветеринарній медицині, незважаючи на високу ефективність, безпечність і пролонговану дію, ліпосомальні препарати практично не використовуються або застосовуються вкрай обмежено. У цьому контексті розробка ефективних ветеринарних препаратів у формі ліпосомальної емульсії є актуальною науковою проблемою сьогодення.

Враховуючи вищевикладене метою цих досліджень була розробка нового комплексного препарату «Ліповіт», що містив у своєму складі вітаміни А, D_3, Е у формі ліпосомальної емульсії й порівняння його впливу й впливу препарату «Тривіт» на показники Т- і В-клітинної ланок імунної системи поросят за умов відлучення від свиноматок.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження виконували на трьох групах поросят, по 5 тварин у кожній групі. У день відлучення від свиноматок (у 28-добовому віці) поросятам контрольної групи вводили ізотонічний розчин натрію хлориду, першої дослідної групи — препарат «Тривіт», а другої дослідної групи — препарат «Ліповіт». Ін'єкції тваринам препаратів проводили внутрішньом'язово й одноразово, дозою 0,1 мл/кг маси тіла. Препарат «Ліповіт» розроблений у лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН, при його виготовленні використовували поверхнево активну речовину твін і ефірний розчин соєвого *L-α*-лецитину. Для досліджень у поросят із краніальної порожнистої вени брали кров у день відлучення та на 4- й 9-ту доби після відлучення.

Із стабілізованої гепарином крові у градієнті фікол-верографіну виділяли лімфоцити. Т-лімфоцити підраховували у реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана методом M. Jondal (1972) у модифікації (Віщур О. І., Огородник Н. З., Лешовська Н. М., 2007). Досліджували активні і теофілінрезистентні (ТФР, хелпери) Т-лімфоцити.

Теофілінчутливі (ТФЧ, супресори) клітини вираховували за різницею між загальною кількістю Т-лімфоцитів та ТФР-лімфоцитів. Імунорегуляторний індекс (IPI) визначали за співвідношенням ТФР до ТФЧ-лімфоцитів. Для визначення В-лімфоцитів готували ЕАС-систему (еритроцити, сенсибілізовані антитілами і комплементом) із додаванням гемолітичної сироватки (Чернушенко Е. Ф. с соавт., 1979).

Результати і обговорення. Важливе значення при дослідженні формування специфічної імунної відповіді в організмі належить визначенню кількості у крові Т- і В-лімфоцитів та їх основних регуляторних субпопуляцій, які характеризують рівень захисних сил. Результати проведених досліджень показали (рис. 1), що відлучення від свиноматок спричинило тенденцію до зменшення у крові поросят контрольної групи кількості загальних і теофілінрезистентних-Т-лімфоцитів на 4- й 9-ту доби після відлучення. Парентеральне введення поросятам перед відлученням від свиноматок жиророзчинних вітамінів А, D_3, Е у вигляді олійного розчину (препарат «Тривіт») та у формі ліпосомальної емульсії (препарат «Ліповіт») сприяло збільшенню у їх крові після відлучення відносної кількості Т-лімфоцитів, зокрема загальних, активних і теофілінрезистентних. Проте, порівняно з контролем, вірогідні різниці було зафіксовано лише у поросят другої дослідної групи на 4-ту добу після відлучення щодо зростання ($p<0,05$) чисельності у крові теофілінрезистентних-Т-лімфоцитів. Отримані дані свідчать про більший стимулювальний вплив вітамінів А, D_3, Е у формі ліпосомальної емульсії, ніж їх олійного розчину, на клітинну ланку специфічної імунної відповіді в організмі поросят після відлучення від свиноматок.

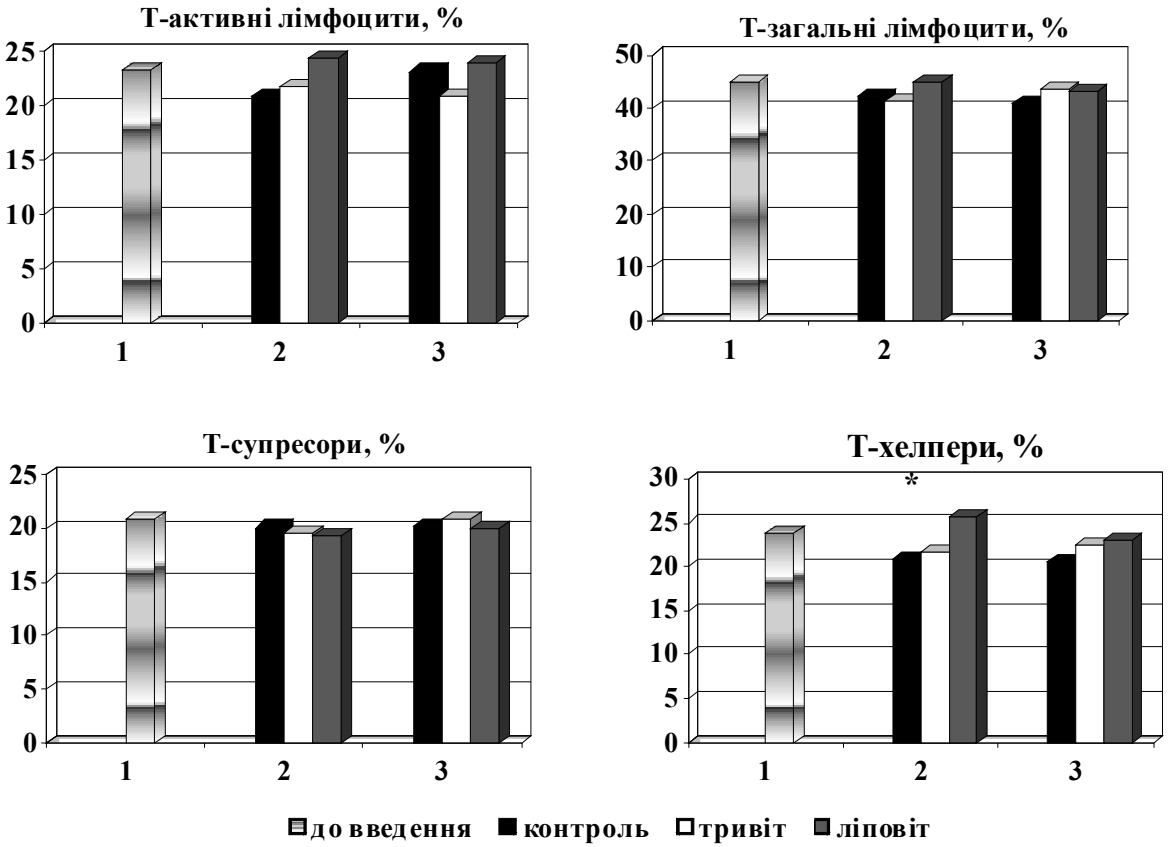


Рис. 1. Відносна кількість Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій у крові поросят (M±m; n=3–5)

Примітка. На цьому й наступному рисунках періоди досліджень: 1 — до відлучення; 2 — 4-та доба після відлучення; 3 — 9-та доба після відлучення.

Як видно із представленої на рисунку 2 діаграми величина імунорегуляторного індексу у крові поросят обох дослідних груп у всі періоди досліджень перевищувала контроль. Водночас у периферичній крові поросят другої дослідної групи на 4-ту добу після відлучення було виявлено збільшення на 8 % ($p<0,05$), порівняно з контролем, відносної кількості В-лімфоцитів. Оскільки В-лімфоцити є попередниками клітин, які беруть участь в утворенні антитіл, вірогідне збільшення їх кількості у крові поросят за умов введення препарату «Ліповіт» свідчить про ефективність застосування вітамінів А, D_3, Е

у формі ліпосомальної емульсії з метою підвищення здатності організму до активного синтезу захисних антитіл.

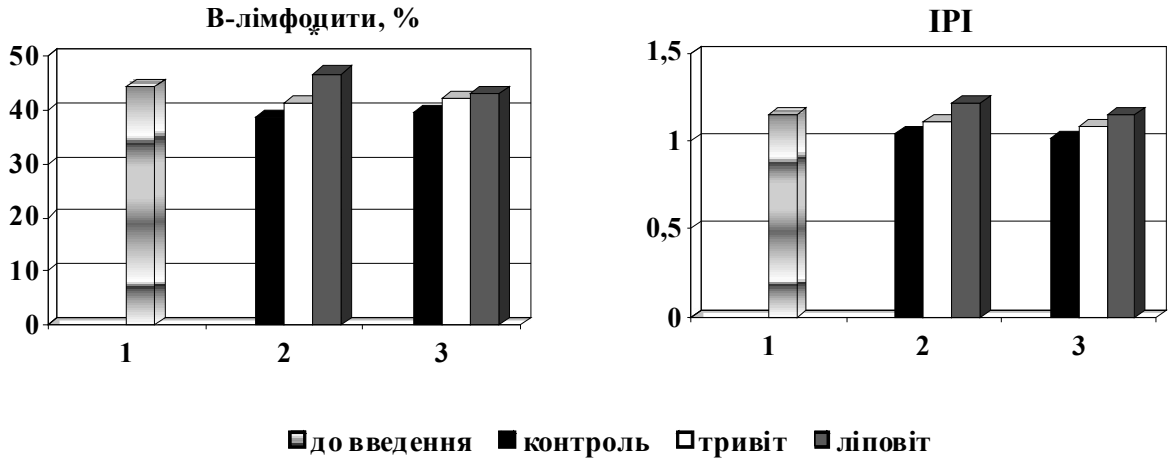


Рис. 2. Імунорегуляторний індекс і відносна кількість В-лімфоцитів у крові поросят (M±m; n=3–5)

Загалом, зміни у співвідношенні імунокомпетентних клітин крові поросят другої дослідної групи вказують на те, що вітаміни А, D_3, Е при комплексному їх поєднанні й введенні у формі ліпосомальної емульсії є активаторами клітинних і гуморальних захисних механізмів у їх організмі за умов відлучення від свиноматок.

Зазвичай тваринам жиророзчинні вітаміни вводять у вигляді олійних розчинів. На сьогодні розроблено й широко застосовується ціла низка ветеринарних препаратів, які містять вітаміни А, D_3, Е («Тривіт», «Тетравіт», «Тривітамін», «Зоовіт-3», «Форвіт», «Вітафарм нектар», тощо). Але, як свідчать отримані нами результати, вітаміни А, D_3, Е, введені у вигляді олійного розчину (препарат «Тривіт»), проявляють менш виражений вплив на формування специфічної імунної відповіді в організмі поросят, ніж введені у формі ліпосомальної емульсії. Це пов’язано з тим, що лише незначна частина вітамінів трансформується у тканинах, решта транзитом виводиться з організму. Окрім

цього, за дії органічних і неорганічних каталізаторів жиророзчинні вітаміни швидко окиснюються з утворенням пероксидів [8, 9].

Таким чином, більш ефективною у фармакологічному й терапевтичному аспекті формою вітамінів А, D_3, Е є ліпосомальна емульсія, адже вона забезпечує повільне руйнування ліпідних компонентів препарату й запобігає його швидкій деградації в крові. Очевидно завдяки інкапсулюванню у ліпосоми вітаміни А, D_3, Е триваліше зберігаються в органах і тканинах, поступово вивільняються з ліпідної оболонки й краще впливають на імунні процеси в організмі поросят при відлученні від свиноматок. Слід зазначити, що ліпосоми є імунологічно інертними структурами, які не володіють властивістю антигенів й не викликають розвитку в організмі захисних і алергічних реакцій [10].

Висновки. Введення вітамінів А, D_3, Е у формі ліпосомальної емульсії сприяє збільшенню у крові поросят відносної кількості теофілінрезистентних-Т-лімфоцитів ($p<0,05$) і В-лімфоцитів ($p<0,05$) на 4-ту добу після відлучення. Встановлено, що ліпосомальна форма жиророзчинних вітамінів проявляє більш виражений вплив на активність Т- і В-клітинної ланок імунітету поросят, порівняно із їх застосуванням в олійному розчині.

Список літератури

1. *Галицька С. М., Нікольський І. С.* Біологічні властивості ліпосом та їх практичне використання // Фізіологічний журнал. — 2008. — Т. 54, № 5. — С. 99–105.

2. *Дубовий Д. В.* Адресна доставка і транспорт ліків за допомогою нанотехнологій // Український науково-медичний молодіжний журнал. — 2010. — № 3. — С. 34–35.

3. *Zhamsaranova S. D., Lamazhapova G. P.* Research of reparation properties of liposomal form of biogenic lipids // Journal of International Research Publications: Materials, Methods and Technologies. — 2009. — Vol. 3, № 1. — P. 431–441.

4. *Воеводин Ю. Е., Улитько В. Е., Лифанова С. П., Десятов О. А.* Морфобиохимический состав крови и молочная продуктивность коров при включении в их

рационы липосомального антиоксидантного препарата // Вестник Ульяновской сельскохозяйственной академии. — 2013. — № 4 (24). — С. 81–85.

5. *Третьякова О. С., Заднипряный И. В.* Липосомы как идеальные средства доставки лекарственных препаратов // Здоровье ребенка. — 2009. — № 3. — С. 118–121.

6. *Розенфельд Л. Г., Чекман І. С., Тертишна А. І. [та ін.]*. Нанотехнології в медицині, фармації та фармакології // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2008. — № 1–3. — Р. 3–7.

7. *Юлиш Е. И., Абатуров А. Е.* Липосомальная терапія: настоящее и будущее // Здоровье ребенка. — 2008. — № 1 (10). — С. 87–90.

8. *Данчук В. В.* Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці. — Кам'янець-Подільський: «Абетка», 2006. — 192 с.

9. Куртяк Б. М., Янович В. Г. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві. — Л.: Тріада плюс, 2004. — 426 с.

10. Назаров Г. В., Галан Г. В., Назарова Е. В. [и др.]. Наноразмерные формы лекарственных соединений // Химико-фармацевтический журнал. — 2009. — Т. 43, № 3. — С. 41–48.

КЛІНІЧНА ЗНАЧИМІСТЬ МОНІТОРИНГУ ЕПІТЕЛІАЛЬНО-МЕЗЕНХІМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДУ ПУХЛИННИХ КЛІТИН ПРИ ОНКОПАТОЛОГІЯХ

Руслана Кочерга

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Наталя Бездєнєжних

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Abstract. Actual research materials dedicated to the importance of epithelial-mesenchymal transition of malignant cells in neoplastic process were reviewed. The latest methods of suppression epithelial-mesenchymal transition in tumor cell were analyzed and summarized in the therapeutic context to prevent the development of metastasis in the cancer patients.

Keywords: epithelial-mesenchymal transition, anti-EMT strategy, cancer pathology, metastasis.

Вступ. Метастазування під час пухлинного процесу є основною причиною смертності серед хворих на рак: масивне метастатичне ураження призводить до розвитку важкої органної недостатності та, відповідно, до смерті пацієнта. При цьому в метастатичний процес активно включаються різні молекулярні і клітинні механізми, які згідно з опублікованими даними, залежать безпосередньо від такого біологічного феномена як – епітеліально-мезенхімальна трансформація, що вперше була описана в 1995 році E.D. Hay [1]. Епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП) (від англ. Epithelial-mesenchymal transition) складний процес зміни клітинами епітеліального фенотипу на мезенхімальний, в результаті якого пухлинні клітини набувають метастатичних властивостей: здатності до міграції, інвазії та поширенню у

вторинні вогнища [2]. Оскільки ЕМП є одним із ключових факторів розвитку захворювання у хворих на рак, деталізація даного процесу та розуміння механізмів допоможе створити теоретичну основу для розробки нових підходів до раціональної терапії і розвитку антиметастатичних стратегій лікування хворих [3].

У той час як процес ЕМП клітин був детально описаний та продемонстрований *in vivo* під час ембріогенезу, його роль у метастазуванні все ще обговорюється, а дослідження в цьому напрямку проводяться в різних країнах світу і є надзвичайно актуальними, оскільки, на думку вчених, поява в онкологічній практиці нових терапевтичних стратегій, пов'язаних з впливом на процес ЕМП – перспектива найближчого майбутнього [2,4].

Основна частина. Історично склалось так, що визначення епітеліальних та мезенхімальних клітин базувалось на різниці їх візуальних характеристик та на морфології утворених ними багатоклітинних структур. Так, зокрема було встановлено, що епітеліальні клітини утворюють міцні міжклітинні контакти та формують щільний моношар, який виключає відокремлення індивідуальних клітин. Мезенхімальні клітини, навпаки, не формують впорядкованої структури та не утворюють щільних міжклітинних контактів, завдяки чому зменшуються їх адгезивні властивості та збільшується їх здатність до міграції. Відомо, що як епітеліальні, так і мезенхімальні клітини внаслідок дії певних чинників можуть набувати властивостей клітин обох типів, тобто в пухлинній тканині мають місце два процеси – ЕМП та зворотній йому – МЕП (мезенхімально-епітеліальний перехід) [2,5].

У 2012 році групою вчених на чолі з науковим керівником Bonnomet було створено та описано одну з нових моделей, з використанням ксенотрансплантанту миші, для дослідження процесу ЕМП, при цьому вони показали, що процес ЕМП відбувається вже всередині первинної пухлини, а в клітинах, що знаходяться на периферії активізується їх здатність до міграції – вони потрапляють у кров`яне русло та циркулюють організмом. Як вже

згадувалося вище, оберненим до ЕМП є процес МЕП, під час якого утворюються вторинні пухлинні вогнища, і в формуванні таких віддалених метастазів велику роль грають саме циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК), що за даними дослідників також залучені в ЕМП [1,2,6]. Потрапляння таких ЦПК із домінуванням мезенхімальних характеристик у кров`яне русло призводить до труднощів їх ідентифікації через проблеми виокремлення останніх від нормальних мезенхімальних клітин крові. За даними багатьох авторів, мігруючі пухлинні клітини більш стійкі до хіміо – і променевої терапії: дане явище пов`язують із тим, що клітини в стані міграції на деякий час втрачають здатність до проліферації. Крім цього, відомо, що клітини в стані ЕМП також проявляють хіміорезистентність, яку деякі автори пов`язують з індукцією в процесі ЕМП синтезу білків родини ABC, що здійснюють викид хіміопрепаратів з клітини [7].

Молекулярні механізми, що лежать в основі ЕМП. В даний час відомий ряд ключових моментів у реалізації механізмів ЕМП, серед яких: пригнічення експресії гена Е-кадгерину, що бере участь в утворенні щільних контактів між епітеліоцитами; збільшення експресії генів відповідальних за мезенхімальний фенотип епітеліоцитів, таких як віментин, актин, фібронектин; посилення клітинної рухливості внаслідок активації сигнальних шляхів, що призводять до реорганізації цитоскелета; підвищення експресії генів, що кодують матриксні металлопротеїнази (ММП), які беруть участь в деградації позаклітинного матриксу і базальної мембрани [8]. Також до числа молекул індукторів ЕМП відносяться розчинні фактори росту (фактор росту гепатоцитів і фібробластів), а також цілий ряд молекул позаклітинного матриксу. ЕМП розвивається внаслідок індукції програм пов'язаних з активацією таких ключових факторів транскрипції, як TWIST1, Snail, Slug і ZEB 1/2. Всі ці фактори активують сигнальні шляхи, що ведуть до реалізації генетичної програми ЕМП [2]. Ідентифіковано білки ZEB1 і ZEB2, що здатні безпосередньо зв'язуватися з промоторами індукуючи експресію генів

мезенхімальних маркерів і пригнічуючи експресію Е-кадгеринів та деяких інших маркерів епітеліальної тканини. Аналогічним чином Snail і Slug здатні пригнічувати експресію гена Е-кадгерина, а також продукцію таких епітеліальних білків як десмоплакін і клаудин, що здатні активувати експресію віментину і матриксних металопротеїназ, підвищуючи тим самим міграцію пухлинних клітин. Існує думка, що ZEB1 / 2, Snail і Slug індукуються TGF-β, запальними цитокінами та гіпоксією [9]. За літературними даними відомо, що конкретні мікроРНК здатні регулювати ЕМП, а саме з родини мікроРНК-200 (MIR-200), що асоційовані з продукцією білків Zeb1 / Zeb2. Втрата мікроРНК-200 призводить до включення програми ЕМП. Інші мікроРНК які регулюють Zeb1/2 включають MIR-205 і MIR -192 / 215,16,19 і мікроРНК, які регулюють Snail1 або Snail2 включають MIR-1, MIR-29b, MIR-30c, MIR-34 [10].

Потенційні варіанти використання ЕМП для прогнозування перебігу захворювання у хворих на рак. На сьогодні існує багато досліджень присвячених вивченню експресії транскрипційного фактору Snail, надекспресію якого пов'язують з низькою виживаністю серед хворих на рак. Надекспресія іншого транскрипційного фактору – Twist такожпов'язана з негативним клінічним прогнозом при багатьох видах онкопатології: раку сечового міхура, раку молочної залози, раку яєчників або шийки матки. Аналогічні ситуації спостерігаються і при значній експресії Віментину, або втраті клітиною білку Е-кадгерину (погіршення прогнозу захворювання) [8].

Останнім часом зростає кількість даних, що стосуються окремих показників ЕМП, при цьому виділяють 4 основні ЕМП маркери, які використовуються найчастіше як прогностичні: Е-кадгерин, віментин, β-катенін, CD44. Більш того експериментально було показано, що одночасна експресія Snail-1, віментину, Е-кадгерину і CD44 спостерігається на більш пізніх стадіях пухлинного процесу та під час метастазування. Отже, одним із факторів для прогнозування перебігу захворювання онкологічних хворих є імунофенотиповий профіль пухлини і, зокрема, характеристика пухлини на предмет маркерів асоційованих із ЕМП

злоякісно-трансформованих клітин [3]. Даний процес, на думку багатьох дослідників, повинен досліджуватися і в клінічній практиці, але на сьогодні такий метод оптимізації лікувальної стратегії хворих на рак тільки починає впроваджуватись. Для моніторингу ЕМП в клініці наразі потрібні експрес методи, які б дозволяли швидко отримувати достовірні результати, щодо ЕМП-статусу злоякісно-трансформованих клітин [6,11]. Підсумовуючи вищевказані дані, можна сказати, що ЕМП під час прогресії захворювання в організмі людини залишається однією з центральних проблем, оскільки ЕМП стає мішенню для розробки протипухлинних препаратів. Крім того, більш детальне дослідження даного процесу висвітлить деякі питання щодо ролі метастабільності в процесі пухлинної прогресії [8].

Потенційність застосування таргетної анти-ЕМП стратегії в лікуванні хворих на рак. Незважаючи на великі сподівання щодо анти-ЕМП підходів під час онкогенезу, фактори регуляції цього процесу залишаються важко керованими в умовах клінік, хоча існує безліч даних про спроби інгібування процесу ЕМП [1,7].

Відомо, що основними індукторами ЕМП є білки TGFβ (TGFβ 1,TGFβ 2, TGFβ 3) і фактори росту (FGF, HGF, EGF, і IGF1) [7]. За даними дослідників потенційними інгібіторами ЕМП можуть бути – SD-093 і LY-580276, активність яких була показана при лікуванні раку молочної залози у мишей, а в даний час вони проходять клінічні дослідження в поєднанні з протипухлинним препаратом гемцитабіном. Також з аналогічною метою було використано речовину Фукоїдан, який показав позитивний результат в пригніченні ЕМП *in vitro* на клітинній лінії раку молочної залози. При цьому спостерігалось зниження експресії Twist-1, Snail і Slug. У 2014 році було опубліковано дані про клінічні випробування людського анти-TGF-β моноклонального антитіла в пацієнтів з пізньою стадією меланоми [9, 10].

Як згадувалося раніше, втрата мікроРНК-200 пов`язана з погіршенням прогнозу захворювання на рак грудної залози, а отже, на думку авторів,

підтримка фонової концентрації даного фактору може позитивно впливати на лікування та блокувати ЕМП [8, 9].

Потрібно відмітити, що в Україні також активно проводяться дослідження, які пов’язані з пошуком модифікаторів фенотипу пухлинних клітин. Так в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького групою дослідників була показана роль інтерферону , як модифікотора клітинного фенотипу й інгібітора ЕМП [12].

Загалом, незважаючи на величезну кількість доклінічних даних про ефективність інгібування ЕМП під час розвитку онкопатології, до сих пір немає стандартних клінічних процедур для реалізації анти-ЕМП стратегії.
Проте є очевидним, що зараз людство вступає в еру персоналізованої медицини де буде реалізована індивідуальна стратегія лікування хворих на рак, що призведе до підвищення її адекватності [6,11].

Висновки. Таким чином, розуміння взаємозв'язку процесів ЕМП та МЕП з прогресією захворювання та моніторинг даних процесів в клінічній практиці є надзвичайно актуальним питанням. Відслідковування такої «пластичності» пухлинних клітин в процесі розвитку злоякісного новоутворення та появи метастатичних чи вторинних пухлинних вогнищ дасть змогу виділити нові мішені для таргетного лікування та корегувати складові терапії з метою максимального підвищення її ефективності.

Список літератури

1. *Котенко К. А.* Эпителиально-мезенхимальный переход и опухолевая прогрессия// Здоров`я України. Онкологія. – 2014. – № 3. – С. 39.

2. *Крахмаль Н. В., Завьялова М. В., Денисов Е. В., Вторушин С. В., Перельмутер В. М.* Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления// Acta naturae. – 2015. – № 2. – С. 25 – 27.

3. *Бездєнєжних Н.О., Лихова О.О., Семесюк Н.І., Кудрявець Ю.Й.* Модифікація антигенних характеристик пухлинних клітин, асоційованих з епітеліально-мезенхімальним

транзитом, під впливом деяких цитокінів та протипухлинних препаратів// Гематологія і переливання крові. – 2014. - № 37. – С. 129.

4. *Xiaoya C., Jinjun L., Ling H., William Y., Lili., Hongyan J., Zexiong W., Jack Y.* The clinical significance of snail protein expression in gastric cancer: a metaanalysis// Human Genomics. – 2016. – Vol. 10. – P. 77.

5. *Pasquier J., Abu-Kaoud N., Al Thani H., Rafii A.* Epithelial to Mesenchymal Transition in a Clinical Perspective// Journal of Oncology. – 2015. – Vol. 10. – P. 1 – 6.

6. *Kölbl A., Jeschke U., Andergassen U.* The Significance of Epithelial-to-Mesenchymal Transition for Circulating Tumor Cells// Molecular Sciences. – 2016. – Vol. 17. P. 2 – 5.

7. *Steinestel K., Eder S., Schrader A.* Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition// Clinical and Translational Medicine. – 2014. – Vol. 17. P. 2 – 5.

8. *Peng F., Xiong L., Tang H., Peng C., Chen J.* Regulation of epithelial-mesenchymal transition through microRNAs: clinical and biological significance of microRNAs in breast cancer// Tumor Biology. – 2016. – Vol. 7. P. 2.

9. *Nezami M., Hager S., Garner J.* EMT and Anti-EMT Strategies in Cancer// Journal of Cancer Therapy. – 2015. – Vol. 6. P. 1014.

10. *Creighton C., Gibbons D., Kurie J.* The role of epithelial–mesenchymal transition programming in invasion and metastasis: a clinical perspective// Cancer Management and Research. – 2013. – Vol. 5. P. 187 – 189.

11. *Graves C., Abboodi F., Tomar S., Wells J.* The translational significance of epithelial-mesenchymal transition in head and neck cancer// Clinical and Translational Medicine. – 2014. – Vol. 17. P. 1 – 3.

12. *Lykhova O., Kovalova O., Bezdenezhnykh N., Adamenko I., Vorontsova A., Strokovska L., Kudryavets Yu.* Inhibition of malignant potential and expression of proteins associated with epithelial-mesenchymal transition in Lewis lung carcinoma cells transduced with murine ifn-β gene in recombinant baculovirus// Experimental oncology. – 2016. – Vol. 38. P. 13.

ВІТАМІН Р У ПЛОДОВИХ ТІЛАХ ДЕЯКИХ МАКРОМІЦЕТІВ

Марія Пасайлюк

Національний природний парк «Гуцульщина», м. Косів, Україна

Abstract. The article investigates the content of vitamin P from carpophores of fungi the various ecologic-trophic groups. Vitamin-P-like substances are presented in the all studied fruit bodies fungi such as *Basidiomycota* R.T. Moore. Moreover, the rutin content is species-dependent, but not dependent on the trophic group of fungi, their consistent and suitability for human using. The highest quantity of routine is set for *Thelephora palmata*, *Hygrocybe quieta, Ramaria aurea, Boletus edulis*. Vitamin P low levels are studied for xylotrophic with solid consistency of the fruit bodies, representatives of the *Polyporales* (*P. fomentarius, S. spumeus, T. versicolor, P. betulinus, D. confragosa, B. adusta and A. ramentacea*) and *Schizophyllum commune*.

Keywords: vitamin P, macromycetes, trophic appliance

Вступ. На території України поступову популяризацію набуває фунгітерапія як новий, дещо екзотичний підхід до цілеспрямованого споживання трофеїв «тихого полювання». З огляду на необхідність знань компонентного складу макроміцетов з лікувальними властивостями, які ми вживаємо, виникає питання детального вивчення вітамінних ресурсів місцевих популяцій грибів. Особливий інтерес викликають похідні кисневмісних гетероциклів, які є одними з найпоширеніших класів природних сполук - флавоноїдів. Низька токсичність флавоноїдних сполук, поряд з вибірковою фармакологічною дією на організм людини, дозволяє широко залучати їх для створення нових лікарських препаратів [1, 2]. Дослідження медико-біологічних властивостей вітаміну Р широко і аргументовано представлені в літературі [3 – 6]. Інша справа – питання вмісту і біологічної доцільності рутину в карпофорах базидіоміцетів. Відомості про наявність вітаміну Р в плодових тілах грибів обмежені, а про фізіологічну роль рутину для самих грибів існують тільки

окремі припущення. Оскільки пошук нових джерел рутину серед об'єктів природного походження є актуальним, метою роботи стало вивчити вміст вітаміну Р в плодових тілах макроміцетов, визначити потенційну значимість грибів як природних джерел вітаміну Р, зробити попередній аналіз можливої ролі цієї сполуки для грибів.

Матеріали і методи дослідження. Для проведення порівняльного аналізу на вміст вітаміну Р використані 40 видів грибів, молоді, неушкоджені плодові тіла яких (3-4 зразки кожного виду) були зібрані у вологій грабово-ялицевій субучині (індекс типу лісу С3-гяБк [7]) на території 9 кварталу Косівського лісництва (420 м над рівнем моря): *Agaricus campestris* Scop., *Agrocybe vervacti* (Fr.) Singer, *Amanita phalloides* Secr., *Antrodia ramentacea* (Berk. & Broome) Donk, *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Quél., *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst., *Boletus edulis* Bull., *Clavulina cinerea* (Bull.) J. Schröt., *Craterellus cornucopioides* (L.) Pers., *Daedaleopsis confragosa* (Bolton) J. Schröt., *Discina ancilis* (Pers.) Sacc., *Entoloma incanum* (Fr.) Hesler, *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Hygrocybe quieta* (Kühner) Singer, *Hypholoma fasciculare* (Huds.) P. Kumm., *Leccinum scabrum* (Bull.) Gray, *Lycoperdon umbrinum* Pers., *Marasmius alliaceus* (Jacq.) Fr., *Mycena galericulata* (Scop.) Gray, *Panaeolus campanulatus* (L.) Quél., *Panaeolus foenisecii* (Pers.) J. Schröt., *Piptoporus betulinus* (Bull.) P. Karst., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Polyporus varius* Grev., *Ramaria aurea* (Schaeff.) Quél., *Russula cyanoxantha* (Schaeff.) Fr., *Russula farinipes* Romell, *Russula foetens* Pers., *Russula grata* Britzelm., *Russula polychroma* Singer ex Hora, *Russula virescens* (Schaeff.) Fr., *Sarcoscypha coccinea* (Gray) Boud., *Schizophyllum commune* Fr., *Spongipellis spumeus* (Sowerby) Pat., *Stropharia semiglobata* (Batsch) Quél., *Thelephora palmata* (Scop.) Fr., *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, *Verpa bohemica* (Krombh.) J. Schröt.. При виявленні екземплярів грибів, занесених до Червоної книги України, для аналізу вилучали тільки фрагменти плодових тіл: *Hericium coralloides* (Scop.) Pers., *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr.

Відбирали макроміцети різних еколого-трофічних груп (мікоризоутворювачі, гумусові сапротрофи, ксилотрофи [8]), з різною консистенцією плодових тіл (тверді, м'ясисті) і різним впливом на людський організм за умови їх вживання (їстівні, неїстівні, отруйні) [9]. Видову приналежність зразків визначали за допомогою ряду визначників [9-11]. Зібрані зразки після ідентифікації висушували для запобігання процесів ферментативного розкладу і псування досліджуваних примірників. Висушені проби грибів подрібнювали, порошок зберігали в герметичних ємностях при кімнатній температурі, так як це описано в Kuka, Cakste [12].

Вміст вітаміну Р визначали після екстракції титриметричним методом. Як індикатор застосовували індигокармін [13, 14]. Повторюваність дослідів для кожного зазначеного зразка – три-чотириразова. Статистичну обробку даних проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати і обговорення. Встановлено, що молоді плодові тіла всіх досліджених грибів містили вітамін Р. Найвищу кількість вітаміну Р (в мг/100 г) зафіксовано для видів *Thelephora palmata* (3,264)*, Hygrocybe quieta* (2,112), *Ramaria aurea* (2,944)*, Boletus edulis* (2,560). Таким чином, концентрація досліджуваної сполуки висока як в плодових тілах грибів, придатних для споживання людиною (*R. aurea, B. edulis*), так і не придатних до вживання (*T. palmate, H. quieta*). Низький вміст рутину характерний для представників *Polyporales* Gäum. (*P. fomentarius* – 0,320*, S. spumeus* – 0,192*, T. versicolor* – 0,384*, P. betulinus* – 0,576*, D. confragosa* – 0,256*, B. adusta* – 0,480, *A. ramentacea* – 0,480). Крім належності до одного порядку, слід зазначити, що спільною рисою досліджених представників була також тверда консистенція плодових тіл. Низький вміст вітаміну виявлено і ще для одного гриба з твердою консистенцією плодового тіла *Schizophyllum commune* (0,192) який, однак, не відноситься до *Polyporales*.

З огляду на отримані дані, можна зробити висновок, що плодові тіла з твердою консистенцією накопичують рутин в значно меншій кількості, ніж м'ясисті.

Незважаючи на порівняно невелику кількість досліджуваних екземплярів, можна говорити, що таксономічна приналежність не впливає на кількість в плодових тілах грибів рутину. Це стосується не тільки великорангових таксонів (адже всі досліджені зразки відносяться до відділу *Basidiomycota* R.T. Moore), але і таксонів більш низького рангу. Це твердження добре ілюструє рід *Russula* Pers. Два його види істотно відрізняються за показниками: в *R. cyanoxantha* виявлено майже в два рази більше рутину, ніж в *R. grata* (0,704 проти 0,448 мг / 100 г матеріалу). Таким чином, у представників цього роду вітамін Р утворюється / накопичується в плодових тілах в різних кількостях. Подібні висновки стосуються і порядку *Agaricales* Underw. – вітамін Р (у мг/100 г) виявлений в різній кількості у його представників (*E. incanum* - 0,832, *H. quieta* – 2,112, *H. fasciculare* – 1,152, *L. umbrinum* – 0,832, *M. galericulata* – 1,664, *P. foenisecii* – 1,344, *P. ostreatus* – 1,557, *S. semiglobata* – 1,024, *S. commune* – 0,192).

В експерименті не встановлено залежності вмісту вітаміну Р від способу живлення грибів, оскільки ця сполука міститься в макроміцетов різних еколого-трофічних груп. Виходячи з того, що більшу кількість рутину виявлено переважно для макроміцетов з м'ясистими карпофорами, які візуально частіше уражаються лісовими шкідниками, а також з огляду на літературні припущення про роль рослинного рутину в забезпеченні антибактеріального, антифідантного і фунгіцидних ефектів [15, 16], ми припустили, що саме ця обставина є вирішальною для утворення/накопичення в м’якотілих плодових тілах грибів цієї сполуки.

Висновки. Плодові тіла всіх досліджених грибів містили вітамін Р. Високим вмістом цієї сполуки вирізнялися непошкоджені карпофори *Thelephora palmata, Hygrocybe quieta, Ramaria aurea, Boletus edulis*. Таким

чином, плодові тіла саме цих макроміцетів є значимими в якості потенційних природних джерел вітаміну Р. Утворення / накопичення вітаміну Р в плодових тілах грибів виключно видоспецифічне і не залежить від еколого-трофічної групи гриба, наявності / відсутності отруйних для людини речовин. При цьому карпофори з твердою консистенцією (*P. fomentarius, S. spumeus, T. versicolor, P. betulinus, D. confragosa, B. adusta, A. ramentacea, S. commune*) накопичують вітамін Р в кількості, у декілька разів меншій, ніж м'ясисті. Таким чином, встановлення біологічної значимості вітаміну Р потребує подальших досліджень, зокрема актуальні дослідження рівня інтенсивності окислювальних процесів при ушкодженні карпофорів грибів, вмісту вітаміну Р та інших потенційних антиоксидантів.

Список літератури

1. *Sukowska-Zlaja K.A., Muszyska B.O., Koska GR* Biological Active Compounds of Fungal Origin Displaying Antitumor Activity // Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research. – 2005. – Vol. 62(2). – P. 153 – 160.

2. *Magalingam K.B., Radhakrishnan A., Haleagrahara N*. Rutin, a Bioflavonoid Antioxidant Protects rat Pheochromocytoma (PC-12) Cells Against 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced Neurotoxicity // International Journal of Molecular Medicine. – 2013. – Vol. 32, № 1. – P. 235 – 240.

3. *Klykov A.G.* Biological and Selection Value of Buckwheat Initial Material with High Content of Rutin // Sel'skokhozyajstvennaya biologiya. – 2010. № 3. – P. 49 – 53.

4. *Medvidović-Kosanović MA, Šeruga MA, Jakobek LI, Novak IV*. Electrochemical and Antioxidant Properties of Rutin // Collect. Czech. Chem. Commun. – 2010. Vol. 75, № 5. – P. 547 – 561.

5. *Bai K.M., Radhakrishnan MM., Nagaraja HA*. Rutin, a bioflavonoid antioxidant protects rat pheochromocytoma (PC-12) cells against 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced neurotoxicity // International Journal of Molecular Medicine. – 2013. – Vol. 32, № 1. – P. 235 – 240.

6. *Aruna RA, Geetha AR, Suguna PE.* Rutin Modulates Ethanol and High Fat Diet - Induced Inflammatory Changes in Pancreas – a Dose Response Study in Rats // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2012. Vol. 4 № 4. – P. 409 – 414.

7. *Герушинський З.Ю.* Типологія лісів Українських Карпат: навчал. Посібник. – Львів: Піраміда, 1996. – 208 с.

8. *Заводовский П.Г.* Афиллофороидные грибы Водлозерья. Петрозаводск: Петрозавод. гос. ун-т., 2011. – 68 с.

9. *Янсен П.* Все о грибах. Санкт-Петербург. СЗКЕО. Кристал, 2004. – 161 с.

10. Визначник грибів України. В 5-ти томах / Ред. *Д.К. Зеров*. — К.: Наук. думка, 1979. — 566 с

11. Визначник грибів України. В 5-ти томах / Ред. *Д. К. Зеров*. — К.: Наук. думка, 1972. — 240 с.

12. *Kuka MA, Cakste IL* Bioactive Compounds in Latvian Wild Edible Mushroom *Boletus Edulis* // In: Foodbalt-Proceedings. – 2011. – P. 116 – 120.

13. *Азарова А.В.* Фармакогностическое изучение девясила иволистного. Дис…канд. фармацевт. наук: – Курск, 2014. – 171 с.

14. *Николюк І.Д.* Біологічно активні речовини рослин: методи вивчення: методичний посібник. – Чернівці: Рута, 2004. – 72 с.

15. *Arima H., Ashida H., Danna G.* Rutin-enhanced antibacterial activities of flavonoids against *Bacillus sereus* and *Salmonella enteritidis* // Biosci. Biotech. Bioch. – 2002. – Vol. 66, № 5. – P. 1009 – 1014.

Medvidović-Kosanović MA, Šeruga MA, Jakobek LI, Novak IV. Electrochemical and Antioxidant Properties of Rutin Collect. Czech. Chem. Commun. – 2010. – Vol. 75, № 5. – P. 547 – 561.

ОТРИМАННЯ ПЕНІЦИЛІНАЗИ КУЛЬТИВУВАННЯМ БАКТЕРІЙ *BACILLUS LICHENIFORMIS*

Ірина Рудкевич, Вікторія Красінько

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. As the title implies the article describes the scope, mechanism of action and features of obtaining penicillinase. Based on published data it is described in short, a comparative analysis of the producers and growth media.

Keywords: *Penicillinase, biosintesis, Bacillus licheniformis,* growth media

Вступ. Ферменти – речовини білкової природи, здатні каталізувати різноманітні реакції перетворення речовини та енергії. Вони відіграють винятково важливу роль у процесах життєдіяльності організмів, здійснюючи обмін речовин, процеси їх асиміляції та дисиміляції. Проте не тільки в організмі, а й виділені в чистому вигляді ферменти за певних умов каталізують різноманітні перетворення, які мають велике значення у різних галузях.

Біотехнологічним шляхом отримують такий важливий фермент, як пеніциліназа. Цей фермент утворюється деякими видами бактерій, які в процесі своєї життєдіяльності набули здатності інактивувати пеніцилін та інші антибіотики. У зв’язку з цим спостерігається резистентність таких бактерій до антибіотиків [1].

Пеніциліназа – фермент, що розщеплює *β*-лактамне кільце 6-амінопеніцилінової кислоти, синтезується певними видами бактерій. Здатен протидіяти антибактеріальній дії пеніциліну та інших *β*-лактамних антибіотиків. У літературі часто згадується як β - лактамаза.

Механізм дії пеніцилінази

Пеніциліназа руйнує *β*-лактамне кільце за допомогою двох основних механізмів [1]:

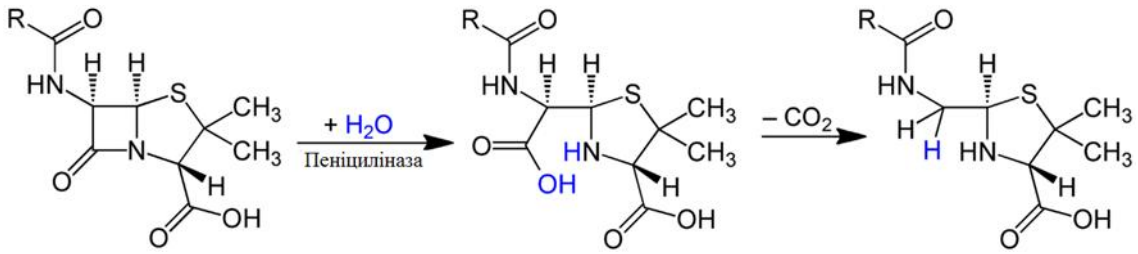


Рис. 1 Схема дії пеніцилінази на *β*-лактамне кільце

Перший механізм, властивий *β*-лактамазам класів A, C і D (розподіл на класи проводиться залежно від послідовності амінокислот у структурі ферменту), полягає у зв'язуванні з субстратом завдяки наявності спеціальної гнучкої активної ділянки (рис.1). Відбувається необоротне зв'язування з вуглецем карбонільної групи *β*-лактамного кільця і порушення його цілісності, що переводить антибіотик у неактивний стан і попутно забезпечує регенерацію *β*-лактамази. Ці класи *β*-лактамаз активні щодо багатьох пеніцилінів, цефалоспоринів та монобактамів [2].

Другий механізм властивий менш поширеній групі *β*-лактамаз, які відносяться до класу B. Ферменти цього класу називаються також метало-*β*-лактамазами, оскільки містять рухливий двовалентний іон металу, найчастіше іон цинку, який здатний зв'язуватися з карбонільної групою більшості пеніцилінів, цефалоспоринів та карбапенемів.

Більшість клінічно значущих *β*-лактамаз належать до класів A і C. Зокрема, клас A включає хромосомні *β*-лактамази, а також практично всі плазмідні *β*-лактамази. Клас містить хромосомні цефалоспоринази, які широко поширені в плазмідах бактерій родини *Enterobacteriaceae* [2].

Раніше β-лактамні антибіотики широко використовувалися для лікування різних інфекційних захворювань. Проте під час тривалого, безсистемного прийому антибіотиків (особливо пеніцилінів) могли виникнути різні реакції організму на препарат. Наприклад анафілактичний шок.

Анафілактичний шок – вид алергічної реакції негайного типу, який виникає при повторному потраплянні в організм алергену. Анафілактичний шок характеризується патологічними змінами зі швидким розвитком зниження

артеріального тиску, температури тіла, розладами центральної нервової системи, підвищенням проникності судин та спазмами гладеньких м'язів органів [3].

Частота випадків анафілактичного шоку збільшується з віком. За останні 30-40 років кількість випадків анафілактичного не тільки в Україні, а й у світі значно зросла, що свідчить про загальну тенденцію до збільшення захворюваності алергічними хворобами. Частіше анафілактичний шок виникає після парентерального введення препарату, рідко – після перорального [3].

В медичній практиці препарат пеніцилінази застосовують при гострих алергічних реакціях та анафілактичному шоці , викликаних препаратами групи пеніциліну.

Нині анафілактичний шок виникає переважно при повторному потраплянні алергену в організм у 0,01 % населення України, а алергічна реакція виникає у 8 % осіб від загального населення нашої держави. Тому виникає потреба у забезпеченні фармацевтичного ринку даним ферментом [2].

Препарат після введення надає швидкий ефект: довго зберігається в організмі (4 доби) і протягом цього часу здатний надавати інактивуючу дію.

Вводять пеніциліназу внутрішньом'язово в дозі 1000000 ОД відразу після виникнення алергічної реакції або анафілактичного шоку. Повторне введення необхідно тільки при тривалій алергічній реакції, що найчастіше зустрічається у випадку застосування пеніцилінів пролонгованої дії (біцилінів та інших) [4].

Своє використання пеніциліназа знайшла не тільки як медперпарат. Пеніциліназа використовується у фармацевтичній промисловості та контрольно-аналітичних лабораторіях для контролю стерильності та мікробіологічної чистоти субстанцій *β*-лактамних антибіотиків. Контроль на стерильність можна провести лише після інактивації антибіотичної активності препарату. Зважаючи на постійне зростання випуску *β*-лактамних антибіотиків, актуальним є і випуск препарату для контролю їхньої стерильності. Також пеніциліназу використовують і для визначення в препаратах *β*-лактамних антибіотиків активного центру [4].

Найактивнішим продуцентом пеніцилінази є *Staphylococcus aureus*. Часто його можна зустріти в лікарнях та шпиталях по всьому світу. Проте *S. aureus* є

патогенним для людей і бере участь в розвитку різних інфекцій, від легких шкірних інфекцій до більш серйозних інвазивних, включаючи сепсис, пневмонію, ендокардит, глибинних абсцесів і токсикозів у тому числі харчових отруєнь та синдрому токсичного шоку. Тому даний мікроорганізм не використовується у промисловому виробництві пеніцилінази. Також не використовуються через свою патогенну дію і інші продуценти пеніцилінази (наприклад *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) [2,5].

Серед усіх можливих продуцентів пеніцилінази, ряд переваг мають бактерії роду *Bacillus*, які до того ж здатні до синтезу найбільш ефективних по відношенню до антибіотиків форм. Найактивнішими штамами-продуцентами цього ферменту є *B. licheniformis* БСТ-1, *B. licheniformis* 749/С та *B. licheniformis* 6346/С [6,7].

Для порівняння показників біосинтетичної активності вищезазначених штамів аналізували склад поживних середовищ для їх культивування, а також розрахували техніко-економічні показники. Середовище 1 (г/л) [7]: триптон (гідролізат казеїну) – 10, калій фосфат – 4,23, магній сірчанокислий семиводний – 25, ферум сірчанокислий семиводний – 0,1, цинк сірчанокислий самиводневий – 0,1, марганець сірчанокислий семиводний – 0,01, сульфат міді п’ятиводний – 0,001 дихромат калію – 0,0002. Середовище 2 (г/л) [6]: триптон (гідролізат казеїну) – 40,5, натрій лимоннокислий трьохзаміщений – 6**,** калій фосфорнокислий однозаміщений – 2,7**,** магній сірчанокислий семиводний 0,4.

Згідно літературних даних після 8 годин культивування *B. licheniformis* 6346/С та *B. licheniformis* 749/С на середовищі 1 активність ферменту у культуральній рідині складала 0,6 тис ОД/мл та 8 тис Од/мл, відповідно.

Аналіз складу поживного середовища з урахуванням вартості його компонентів та тривалості культивування і активності пеніцилінази в культуральній рідині показує, що для промислового одержання пеніцилінази використання штаму *B. licheniformis* 6346/С є недоцільним через його низьку продуктивність порівняно з *B. licheniformis* 749/С за однакових умов культивування.

Аналіз показників біосинтетичної активності і техніко-економічних показників *B. licheniformis* БСТ-1 та *B. licheniformis* 749/С на середовищі 2 наведено у таблиці.

Таблиця 1. Умовна вартість 1мг цільового продукту (пеніцилінази) при культивуванні B. licheniformis БСТ-1 та B.licheniformis 749/С

Біологічний агент	*B. licheniformis* БСТ-1	*B. licheniformis* 749/С
Вартість 1л середовища, грн	87,11	87,11
Концентрація цільового продукту, тис Од/мл КР	200	165
Умовна вартість 1мг цільового продукту, грн	0,44	0,53
Тривалість культивування, год	17	19
Концентрація цільового продукту, синтезованого за год, тис Од/мл КР	11,76	8,68

Розрахована умовна вартість 1 мг цільового продукту для різних біологічних агентів показала що, для одержання пеніцилінази, як біологічний агент доцільно обрати штам *B. licheniformis* БСТ-1 у якого продуктиність є вищою майже у 1,5 рази порівняно з *B. licheniformis* 749/С.

Культивування пропонується здійснювати на поживному середовищі складу (г/л) [6]: триптон (гідролізат казеїну) – 40,5; натрій лимоннокислий трьохзаміщений – 6; калій фосфорнокислий однозаміщений – 2,7; магній сірчанокислий семиводний – 0,4;

Висновки. На основі літературних даних та розрахованих техніко-економічних показників встановлено, що для промислового одержання пеніцилінази доцільно використовувати штам *Bacillus licheniformis* БСТ-1. Переваги цього штаму перед іншими продуцентами полягають у його непатогенності, порівняно з *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis*. Окрім того *B.licheniformis* БСТ-1 має найбільшу

продуктивність (200 тис Од/мл) порівняно з штамами *B.licheniformis* 749/С та *B.licheniformis* 6346/С за однакових умов культивування та біосинтезі на однаковому поживному середовищі.

Список літератури

1. *Bhopale G.M., Naik S.R.* Penicillinase as a potential enzyme marker for enzyme linked immunosorbent assay and its application in immunodiagnostics // Hindustan Antibiot Bull. – 1993. – Vol. 35. – P. 157 – 172.

2. *Эйдельштейн М.В.* β-лактамазы аэробных грамотрицательных бактерий: характеристика, основные принципы класификации, современные методы виявления и титрования. [Електронний ресурс]// Режим доступу: http://www.antibiotic.ru/cmac/2001_3_3/223.htm

3. Особливості перебігу та лікування анафілактичного шоку в сучасних умовах /Л.С. Осипова, Л.В. Кузнєцова, В.О. Грем'яков. Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика; Міський алергологічний центр, м. Київ [Електронний ресурс] // Режим доступу: http://urgent.com.ua/article/60.html

4. Клиническая фармакология и фармакотерапия. [Електронний ресурс]// Режим доступу*:* http://pharmacotherapy.com.ua/penicillinaza.html

5. *Gus Gonzalez*, MD Proteus Infections.MedScape [Електронний ресурс]// Режим доступу: http://emedicine.medscape.com/article/226434-overview

6. Пат. №2221041 РФ, 200221262425/13. Штамм *Bacillus licheniformis* БСТ-1 – продуцент пенициллиназы и способ получения пенициллиназы/ Бартошевич Ю.Э., Зубарев Т.Н., Кутуков Д.С. – Опубл. 10.01.2004.

7. Pollock M.R. Perfication and Properties of Penicillinases from two Stains of *Bacillus licheniformis*: CPPC.– London.– 1965.–Vol. 94 − P.666–675.

LABORATORY RESULTS VISUALIZATION TECHNIQUES FOR ATHLETE'S PERSONAL DECISION SUPPORT

Ievgeniia Rudkovska, MSc, Janek Metsallik, MSc
Tallinn Technical University, Tallinn, Estonia

Abstract. Project was dedicated to identification of usefulness of visualization among young people who are doing sports regularly. One more aim of the project was to identify which visualization will be the most understandable for young athletes with regard to monitor their health condition.

Keywords: visualization, laboratory values, information processing, young athletes.

Introduction. Around 1 trillion of connected objects and devices generated data in 2015 (Digital, 2015). With regard to get benefit from this amount of data generated every day visualization started to be used. During the further studies it appeared that data is generated not only in spheres of our daily life, but also in healthcare, especially it became very actual topic with development of Electronic Health record (EHR) and E-health technologies. The studies show that physicians facing difficulties with processing big data amounts about their patients. Healthcare professionals are interested in decision-support systems for their everyday work and appeared that visualization will be very helpful for their everyday routine (Helldén, et al., 2015).

There are numerous spheres of healthcare where the visualization is widely used: improvement of EHR representation (Mane, et al., 2012), search system visualization and its improvements (Majeed, Stöhr, Brenner, & Röhrig, 2014), visualization of unstructured and narrative data from EHR (Deng & Denecke, 2014), tools that help patients to become empowered and make decisions about their health (Kuhn, et al., 2015). However, there is one sphere of healthcare that is not covered by visualization – visualization of lab results of patients. This work was dedicated to

study the need of visualization and covering the topic of what type of visualization is the most understandable for young people who do sports and interested in their health.

The project has been written with input from Synlab laboratories in Tallinn and has valuable comments from healthcare professional (HCP) from Synlab laboratory. Firstly, there were created visualizations that could be used in frames of lab analyzes representation. After that, with regard to estimate interest of youngsters to visualization patterns, the questionnaire was provided, results were collected and analyzed.

Methods. All work was divided into two parts: theoretical and practical.

During theoretical part, information was collected from PubMed and Google Scholar sources. Only free full articles were used for literature overview writing. In addition, “Similar Articles” tool in PubMed was used.

This tool helped to find articles relevant to the topic of the research that would have full text and would give full info about the topic presented in the title of the study.

In practical part there were different tools used and they were chosen according to the purpose of study and depending on result that had to be achieved.

1. For creation of scenarios were used Microsoft Office Word 2013 and Persona template at https://xtensio.com/ website;
2. For creation of survey and collecting responses to it Google Forms online tool was used;
3. For creation of graphs, charts and tables Microsoft office Excel 2013 was used.
4. For creation of wordcloud visualizations Wordclouds website was used http://www.wordclouds.com/
5. With regard to get input from healthcare professional personal meetings were conducted.

Survey included 11 questions (https://1drv.ms/b/s!AhgTzp3kUASxhfN7MHv7G6GnVxAy2A). The responses were collected from 14th to 25th of April 2016. The questionnaire was spread through social media: Facebook Messenger, Facebook, VK.com, VK chat application. All the respondents that took part in the survey were 18-35 years old. There was no criteria about race, nationality, skin color, ethnicity. Main criteria was young people, who do sports regularly (at least once a week).

The aim of the questionnaire was to collect statistical data with regard to answer the following questions:

1. Is the visualization needed in general?
2. Are young people willing to see their laboratory results visualized?
3. In case data visualized, then do they understand what is presented on the graphs?
4. What type of visualization is most useful for the young athletes?

As soon as main idea of survey was to get statistical data, the quantitative method was used. Last question except standard answers „yes“ and „no“ had option of leaving the comment.

Discussions. During the practical part there were four meetings with Synlab conducted (5.02.2016, 12.02.2016, 18.02.2016, 6.05.2016). All meetings were organized in premises of Synlab, Väike-Paala 1, Tallinn, Estonia. The rest of communication was done by email.

First meetings were dedicated to recognition of possible ways of common work. In addition, possible scenarios of the sportsmen who could be possible target for the mentioned study were defined. During the work, we defined three scenarios of sportsmen, who could be interested in the lab analysis and monitoring of their health (https://app.xtensio.com/folio/z3tne1ef). These scenarios were developed further with the possible visualizations and visualizations themselves became a basis for future survey that was provided to youngsters.

During the meetings with Laboratory, the following visualizations were approved for further use: table visualization, graph visualization, chart visualization, wordcloud visualization. In addition, it was agreed that small narrative explanation with main points should be present as well.

As soon as all blood tests have big number of values, it was hard to define which parameters will be most exponential for our studies. After further research and meeting with laboratory doctor, the following parameters were decided to use in the visualizations: c-reactive protein, ferritin, Vitamin D and hemoglobin. These values are also interconnected and influence each other. This knowledge helps to create patterns and represent them in the graphs. After all graphs were created and all interconnections shown and analyzed, they were put in the survey with regard to study how understandable the mentioned visualizations are for young athletes.

Survey was created with help of Google forms and consisted of 11 questions with answers “yes” and “no”. The survey collected 99 responses. Only 75 of them were used for further research due to the fact that main focus of the survey was to get responses from young athletes (youngsters who does sports at least once a week on regular basis). From these 75 responses there were 39 % of sportsmen, who are doing sports once a week, 44 % sportsmen who are doing sport 2-3 times per week, 17 % sportsmen who are doing sports more that three times per week.

In case we talk about the gender balance, then the result were the following: male respondents were 39 % of all quantity and female respondents form 61 % of response rate. Age distribution of respondents was following: 18-25 y.o – 28 %, 26-30 y.o. – 47 %, respondents are older than 30 years – 25 %.

Next block of questions was dedicated to understanding of exact visualization types.

Table visualization was understandable for 81 % of respondents and not understandable for 19 % of people. Concerning chart visualizations, here responses were almost equal, meaning that 51 % of respondents could understand chart visualization and 49% of respondents did not understand the lab values presented in

chart. Next question was about graph visualization with all values in one graph and 45% responded answered that it understandable for them and 55 % of respondents think that this graph is not easy to understand. At the same time question 8 about graph visualization with only one value had bigger amount of positive responses. 76 % of respondents answered that they understand this graph and 24 % of respondents told that they don't understand this visualization. Wordcloud visualization (questions 9) was understandable only for 25 % of respondents and 75 % counted it as one that does not make any sense to them.

Question 10 we put in the questionnaire with regard to estimate what is the most useful visualization for the young athletes (detailed diagram is shown in Figure 1). It appeared to be table visualization and it got 47 % answers, on the second place was graph visualization with one value – 20 %, third place was taken by graph visualization with all values – 16 %, on fourth place was chart visualization – 8 %, wordcloud visualization got 7 % of responses. 3 % of respondents thought that none of these visualizations are understandable for them.

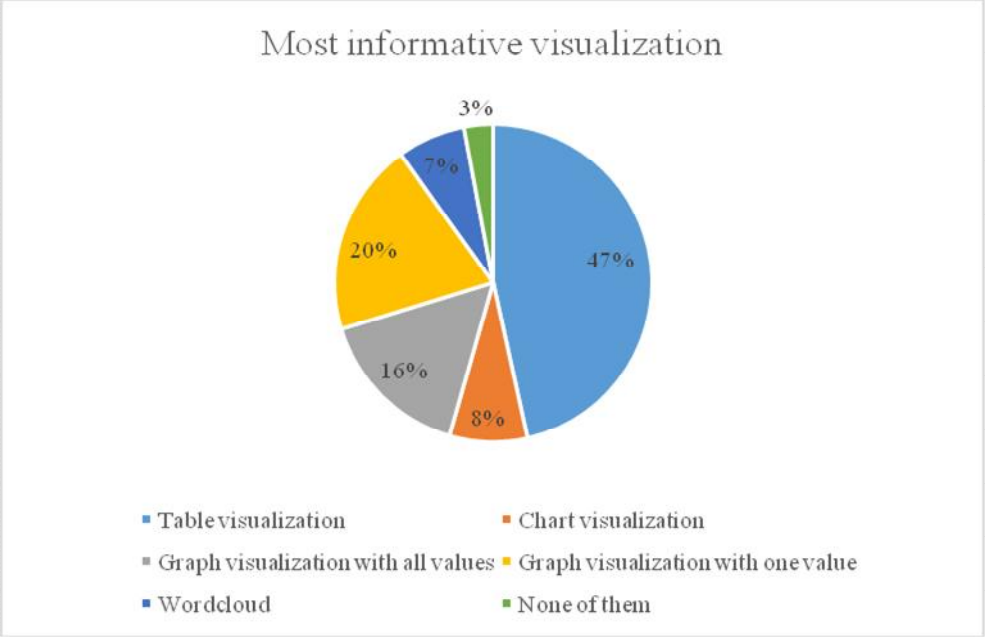


Fig. 1. Pie chart with responses about most understandable visualization

Last question was: In general, do you think it is needed to present lab values in visual form? This question had 3 answers: Yes, it is needed; not, it's not needed, Other (and possibility to leave the comments). 84% of respondents told that visualization of lab results in needed, 8% think that it is not needed and 8% of respondents decided to leave the comments.

Conclusions. After conducting the survey and analyzing responses we saw that in general youngsters that do sports are concerned about state of their health and most valuable and understandable visualization appeared to be table visualization with color representation of values that are in and out of reference. The input from healthcare professional showed that young sportsmen that do sports changed their behavior with help of visual representation of results and after consultation of HCP.

During work on this project, we have slightly touched big, not researched earlier topic of lab values visualization. Our project and outcomes of the survey showed, that visualization is needed for youngsters and they are interested to make decisions about their lives. During the work, there were many questions that popped up and can be considered for further research. One of the main questions was how can we identify and understand that visualization influences life of young athletes, does it really changes behavior, lifestyle? If yes, then how? In case yes, how can it be measured it and what will be the criteria for measurement? Additional question that popped up in accordance to fast development of technologies and health trackers, how can we use them with regard to integrate monitoring, patient portal and use them to change behavior and lifestyle of patients? These topics have to be discussed and studied further in future projects.

References

1. *Digital, C.* The importance of data visualization (presentation). – 2015. http://www.slideshare.net/Centerline_Digital/the-importance-of-data-visualization

2. *Helldén, A., Al-Aieshy, F., Bastholm-Rahmner, P., Bergman, U., Gustafsson, L., Höök, H., . . . Odar-Cederlöf, I.* Development of a computerised decisions support system for renal risk drugs targeting primary healthcare// BMJ Open. - 2015. - 5(7). - P.1-9.

3. *Mane, K., Bizon, C., Schmitt, C., Owen, P., Burchett, B., Pietrobon, R., & Gersing, K.* VisualDecisionLinc: A visual analytics approach for comparative effectiveness-based clinical decision support in psychiatry//Journal of Biomedical Informatics. – 2012. - 45(1). – P.101-106.

4. *Kuhn, L., Reeves, K., Taylor, Y., Tapp, H., McWilliams, A., Gunter, A., . . . Dulin, M.*. Planning for Action: The Impact of an Asthma Action Plan Decision Support Tool Integrated into an Electronic Health Record (EHR) at a Large Health Care System// Journal of the American Board of Family Medicine. – 2015. - 28(3). – P.382-393.

5. *Majeed, R. W., Stöhr, M. R., Brenner, T., & Röhrig, R.*. ChronoQuery: Visual Modelling of Temporal Queries for Real-Time Decision// European Federation for Medical Informatics and IOS Press. – 2014. – P. 93-97.

6. *Deng, Y., & Denecke, K.* Visualizing Unstructured Patient Data// *e-Health – For Continuity of Care.* - 2014. – P. 1158-1162.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ТИМИДИНА – ПРЕДШЕСТВЕННИКА АЗИДОТИМИДИНА (AZT)

Дмитрий Свинаренко, Виктория Красинько

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев

Abstract. *The article focuses on the problem of HIV / AIDS. Particular attention is paid to the prevention of HIV transmission from a mother to her child. The application of AZT as an effective means of reducing the child's infection has been described. The benefits of microbiological synthesis method thymidine as a basis for AZT has been presented. Based on an analysis of published data already submitted in the science literature comparative characteristics of microorganisms-producers of thymidine has been compiled and selected the optimal conditions and medium for their cultivation.*

Keywords: HIV, AIDS, antiretroviral drugs, AZT, thymidine, microorganisms.

Введение. По оценкам экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в настоящее время в мире насчитывается более 40 миллионов людей с диагнозом ВИЧ-инфекция. Ежемесячно жертвами болезни становится 440 тысяч человек. По прогнозам медиков, к 2020 году от страшной болезни в мире умрут 68 миллионов человек, в том числе 55 миллионов жителей стран Африки [1].

В последние годы наблюдается постоянное увеличение доли женщин среди зарегистрированных с ВИЧ-инфекцией. Подавляющее большинство ВИЧ-позитивных женщин находятся в фертильном возрасте.

С увеличением числа женщин, живущих с ВИЧ/ СПИДом, возрастает количество рожденных ими детей.

Риск вертикальной трансмиссии без профилактических мероприятий колеблется от 10 до 40%, причем из них 15–30% приходятся на

трансплацентарный путь передачи вируса (т. е. внутриутробное заражение), 50–75% случаев заражения имеют место во время родов и 10–20% — при грудном вскармливании [1].

Применение антиретровирусных препаратов для профилактики передачи ВИЧ от инфицированной женщины ее ребенку во время беременности и родов (при отказе от последующего грудного вскармливания молоком инфицированной женщины) значительно снижает риск заражения ребенка (с 30–40% до 0,5–3%). Столь высокая эффективность при достаточной безопасности для матери и плода доказана лишь для схем с применением азидотимидина, которые приводятся в общепринятых рекомендациях.

AZT (зидовудин, Ретровир) был первым препаратом, который начал применяться среди беременных женщин с ВИЧ, и он остается наиболее изученным препаратом. Согласно многим руководствам, он остается желательным вариантом терапии для женщин с низкой вирусной нагрузкой, которые пока не хотят принимать комбинированную терапию. Его дают ВИЧ-позитивным беременным женщинам с 4 месяца беременности до рождения ребенка и новорожденным детям в течение 6 недель. Также он продолжает применяться для профилактики передачи ВИЧ от матери к ребенку в странах с ограниченными ресурсами [2].

Азидотимидин получали химической модификацией тимидина – пиримидинового дезоксирибонуклеозида, который состоит из азотистого основания тимина и пентозы дезоксирибозы, входит в состав молекулы ДНК, в двойной спирали которой формирует две водородных связи с дезоксиаденозином. Это единственный нуклеозид, который входит только в состав ДНК.

В промышленных масштабах тимидин получают путем ферментативного гидролиза дезоксирибонуклеиновой кислоты [3], выделенной из молок лососевых и сельдевых рыб, с последующим отделением тимидина от других дезоксирибонуклеозидов и азотистых оснований.

Недостатками данного способа являются:

- Сезонность поступления сырья (молок);
- Ограниченная доступность сырья;
- Необходимость применения дорогостоящих препаратов (специфических ферментов - нуклеаз) для гидролиза ДНК;
- Высокая стоимость конечного продукта.

Кроме того, масштабное получение тимидина данным способом может нанести существенный вред экологии ценных пород промышленных рыб. Поэтому следует рассмотреть микробиологический путь получения тимидина, как наиболее благоприятный с экологической и финансовой стороны способ синтеза для промышленности.

Наиболее известными продуцентами тимидина являются бактерии *Bacillus subtilis* GNM-39, *Brevibacteruim helvolum* L-17, *Brevibacteruim helvolum* 431 и *B. amyloliquefaciens* КГМ-5 [4÷6].

Материалы и методы исследования. В статье проведен анализ и обработка литературных данных посвященных особенностям микробиологического получения тимидина, как предшественника азидотимидина (AZT).

Результаты и обсуждение. На основе анализа литературных данных [4÷6] составлена общая характеристика технологических особенностей получения тимидина с использованием различных продуцентов (таблица 1).

Самый высокий показатель синтеза целевого продукта - 4,5 г/л достигается при культивировании *B. amyloliquefaciens* КГМ-5. Самая низкая концентрация тимидина наблюдается у *B. subtilis* GNM-39. Продолжительность культивирования бактерий *B. amyloliquefaciens* КГМ-5 составляет 48 часов, а с использованием *B. subtilis* GNM-39 - 96 - 144 ч [4,5].

Таблица 1. Особенности получения тимидина при помощи B. amyloliquefaciens КГМ-5, B. helvolum L-17, B. subtilis GNM-39 та B. helvolum 431

Биологический агент	Состав питательной среды, г/л	Продолжи-тельность синтеза, ч	Концентрация целевого продукта, г/л	Лит. данные
1	2	3	4	5
Bacillus amyloliquefaciens КГМ-5	Глюкоза – 120 БВК – 34 NH_4NO_3 – 25 $MgCl_2$ – 5 $CaCO_3$ – 20	48	4,5	[5]
Bacillus subtilis GNM-39	Глюкоза – 100 KH_2PO_4 – 10 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 10 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0,1 Мочевина – 6 Пептон – 1,5	120	0,15	[4]
Brevibacteruim helvolum L-17	Глюкоза – 150 Дрожжевой экстракт – 10 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 2 K_2SO_4 – 2 Цитрат натрия – 0.5 $CaCl_2$ – 0,55 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ – 0,0162 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,044 $CuSO_4$ – 0,008 $Co(NO_3)_2$ – 0,12 $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ – 0,001 Тіамін – 0,005 Кальция пантотенат – 0,01 Биотин – 0,001 Фолиевая к-та – 0,05 H_3PO_4 – 94,5	168	1,9	[6]

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5
Brevibacteruim helvolum 431	Глюкоза – 150 Дрожжевой экстракт – 10 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 2 K_2SO_4 – 2 Цитрат натрия – 0.5 $CaCl_2$ – 0,55 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ – 0,0162 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,044 $CuSO_4$ – 0,008 $Co(NO_3)_2$ – 0,12 $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ – 0,001 Тиамин – 0,005 Кальция пантотенат – 0,01 Биотин – 0,001 Фолиевая к-та – 0,05 H_3PO_4 – 94,5	168	0,26	[6]

Вместе с тем, сравнительная характеристика только на основе времени культивирования и концентрации целевого продукта (табл. 1) недостаточна. Поэтому на следующем этапе выбора биологического агента сравнивали стоимость питательных сред, используемых всеми продуцентами, а для окончательного выбора рассчитывали условную стоимость 1 г целевого продукта – тимидина (табл. 2) [4-6].

Таблица 2. Условная стоимость 1 мг тимидина при культивировании B. amyloliquefaciens КГМ-5, B. subtilis GNM-39, B. helvolum 431 та B. helvolum L-17

Биологический агент	Стои-мость 1л среды, грн	Конц. Селевого продука, г/л	Стои-мость 1г продукта, грн/г	Время культиви-рования, ч	Конц. тимидина за час, мг/ч
Bacillus amyloliquefaciens КГМ-5	4,15	4,5	0,92	48	46,8
Brevibacteruim helvolum 431	24,5	0,26	94,2	168	1,5
Brevibacteruim helvolum L-17	24,5	1,9	12,9	168	11,3
Bacillus subtilis GNM-39	6,84	0,15	45,6	120	1,25

Выводы. Обобщив все данные, можно сделать вывод, что для получения тимидина целесообразнее использовать именно мутантный штамм *B. amyloliquefaciens* КГМ-5. Среда для культивирования штамма *B. amyloliquefaciens* КГМ-5 является одной из самых дешевых (4,15 грн/л), концентрация целевого продукта – наибольшая (4,5 г / л), а условная стоимость 1 г тимидина - самая низкая - 0,92 грн / г.

Список литературы

1. Профилактика передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку. [Електронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.eurolab.ua/aids/2880/3891/35504

2. Зидовудин (Ретровир®, AZT). [Електронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.aidsinfonet.org/fact_sheets/view/411?lang=rus

3. Пат. 2488634 РФ. Способ получения ДНК из молок лососьевых рыб / М. А. Фролова, Р.В. Рогов, С.М. Шинкарев, О.М. Васильченко, А.И. Албулов, А.В. Гринь, А.Я. Самуйленко, Д.С. Немцев. – Опубл. 27.07.2013

4. *Гарибян А.Г.* Селекция продуцентов тимина и тимидина у *Brevibacterium ammoniagenes* и *Bacillus subtilis*: Автореф. дис. … канд. биол. наук. – Москва, 1991. – 26 с.

5. Пат. 2088659 РФ, C12N1/20, C12P19/40, C12N1/20, C12R1:07. Штамм бактерій *Bacillus amyloliquefaciens* – продуцент тимидина / Королькова Н.В., Миронов А.С., Гарибян А.Г., Полануер Б.М., Тяглов Б.В. – Опубл. 27.08.1997.

6. Pat. 5093244 USA. Thymidine or thymine by fermentation of *Brevibacterium* mutant / Naylor L. A,. – Publ. 03.03.1992.

ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241

Інга Сидор

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Abstract. The dependence of antimicrobial and antiadhesive activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surface-active agents (surfactants, SAS) on the nature of the carbon source in the cultivation medium (ethanol, glycerol, *n*-hexadecane), and the presence of a yeast autolysate and certain microelements was established. Exception of yeast autolysate and microelements mixtures from the medium with all substrates was accompanied by decreasing antimicrobial and antiadhesive activity of SAS synthesized by strain IMV B-7241.

Keywords: *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, microbial surfactants, biofilm, antimicrobial activity, adhesion, minimum inhibitory concentration.

Вступ. За останні роки значно збільшилася кількість праць, в яких описується можливість використання мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР) як ефективних антимікробних та антиадгезивних агентів у медицині та харчовій промисловості [1–3]. Колонізація мікроорганізмами технологічного і медичного обладнання здатна спричиняти не лише отруєння мікробними токсинами споживачів готової продукції, а також і поширення інфекційних захворювань серед пацієнтів медичних установ [4].

Однією із особливостей ПАР мікробного походження як вторинних метаболітів є те, що вони утворюються комплексом подібних сполук (аміно-, гліко-, фосфо- і нейтральних ліпідів), кількість і пропорція компонентів якого може змінюватися, що спричиняє зміну їх біологічних властивостей [3, 5]. Проте дані про вплив умов культивування на властивості мікробних ПАР досить обмежені.

В роботі [6] показано, що заміна дріжджового автолізату і суміші мікроелементів у складі етанол- і *н*-гексадеканвмісних середовищ на сульфат міді та сульфат заліза, а у середовищі з гліцерином – на хлорид калію, сульфати цинку і міді супроводжувалася підвищенням синтезу ПАР в 1,2–1,6 разів, що доводить залежність синтезу ПАР від умов культивування продуцента.

Мета даної роботи – дослідити біологічну дію поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 залежно від наявності факторів росту і мікроелементів у складі етанол, *н*-гексадекан- і гліцеринвмісних середовищ.

Матеріали і методи дослідження. Продуцент ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 вирощували у рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): $(NH_2)_2CO$ – 0,35, NaCl – 1,0, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ – 0,6, KH_2PO_4 – 0,14, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1, вода дистильована – до 1 л, pH 6,8–7,0. У середовище також додатково вносили дріжджовий автолізат – 0,5 % (об'ємна частка) і розчин мікроелементів – 0,1 % (об'ємна частка). В одному з варіантів у середовище з етанолом і *н*-гексадеканом замість дріжджового автолізату і розчину мікроелементів вносили Cu^{2+} (0,16 мкмоль/л) і Fe^{2+} (3,6 мкмоль/л), а в середовище з гліцерином − Zn^{2+} (38 мкмоль/л), Cu^{2+} (0,16 мкмоль/л) і K^+ (0,21 ммоль/л) [6].

Як джерело вуглецю та енергії використовували етанол, *н*-гексадекан у концентрації 2 % (об'ємна частка) та гліцерин − 1 % (об'ємна частка).

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини (препарат 2), екстраговані з супернатанту культуральної рідини (препарату 1) сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1) як описано раніше [7].

Як тест-культури під час визначення антимікробної активності ПАР використовували бактерії (*Bacillus subtilis* БТ-2, *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Proteus vulgaris* БТ-1, *Staphylococcus aureus* БМС-1*, Pseudomonas aeruginosa* П-55, *Enterobacter cloacae* АС-22) і дріжджі (*Candida albicans* Д-6) з колекції живих культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій. Для дослідження антиадгезивної дії використовували деякі мікроорганізми із вище наведених.

Антимікробну активність ПАР аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Визначення МІК здійснювали методом двократних серійних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) для бактерій і рідкому суслі для дріжджів як описано нами в роботі [8]. Ступінь адгезії тест-культур до пластику, полівінілхлориду, кахелю і сталі визначали спектрофотометричним методом як зазначалося раніше [7].

Результати і обговорення. У табл. 1 наведено мінімальні інгібуючі концентрації щодо досліджуваних тест-культур ПАР, синтезованих за умов росту *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на етанолі, гліцерині та *н*-гексадекані за наявності дріжджового автолізату і суміші мікроелементів або певних мікроелементів. Ці дані засвідчують, що незалежно від природи джерела вуглецю у середовищі культивування штаму IMB B-7241, ПАР, синтезовані у середовищі з дріжджовим автолізатом і мікроелементами, є ефективнішими антимікробними агентами, ніж ПАР, отримані на середовищі із сульфатами міді та заліза (або хлоридом калію і сульфатами міді та цинку): МІК (мкг/мл) щодо бактерій становила 9−108 і 18−265, дріжджів − 9−68 і 34−75, відповідно. Крім того, дані показують залежність антимікробної активності ПАР від природи джерела вуглецевого живлення у середовищі культивування продуцента. Так, найвищу антимікробну дію проявляли ПАР, отримані на етанолі за наявності дріжджового автолізату і мікроелементів (МІК 9–75 мкг/мл), у той час як МІК ПАР, синтезованих в аналогічних умовах культивування на гліцерині і *н*-гексадекані, була вищою і становила 34–68 і 27–108 мкг/мл відповідно.

Зазначимо, що встановлені нами показники мінімальної інгібуючої концентрації ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 щодо досліджуваних бактерій родів *Staphylococcus* та *Pseudomonas* є значно нижчими (34–108 мкг/мл), порівняно з МІК ліпопептидів *B. subtilis* MTCC 441 та рамноліпідів *P. aeruginosa* RWI (250 та 8000 мкг/мл) [9, 10]. МІК ПАР штаму IMB B-7241 також є нижчими щодо *S. aureus* БМС-1 (67,5–108 мкг/мл), ніж МІК

поверхнево-активних речовин *P. aeruginosa* MR01 та *P. aeruginosa* MASH1 щодо *S. aureus* ATCC 29213 (128–512 мкг/мл) [2].

Таблиця 1. Мінімальна інгібуюча концентрація ПАР, синтезованих у різних умовах культивування A. calcoaceticus IMB B-7241

Субстрат	Наявність у середовищі	МІК (мкг/мл) щодо						
		B. subtilis БТ-2 (спори)	*E. coli* ІЕМ-1	*P. vulgaris* БТ-1	*E. cloacae* АС-22	*S. aureus* БМС-1	*P. aeruginosa* П-55	*C. albicans* Д-6
Етанол	дріжджовий автолізат, розчин мікро-елементів	9	20	75	75	75	37,5	9
	$CuSO_4$, $FeSO_4$	18	70	135	135	265	135	34
Гліцерин	дріжджовий автолізат, розчин мікро-елементів	34	34	34	34	67,5	34	68
	KCl, $CuSO_4$ і $ZnSO_4$	75	75	150	37,5	150	75	75
н-Гекса-декан	дріжджовий автолізат, розчин мікро-елементів	27	27	27	27	108	108	54
	$CuSO_4$, $FeSO_4$	71	36	37,5	70,5	141	141	71

Встановивши залежність антимікробної активності ПАР *A. calcoaceticus*

ІМВ В-7241 від умов культивування, на наступному етапі досліджували антиадгезивну активність таких ПАР. Експерименти показали, що адгезія бактеріальних клітин на всіх досліджуваних поверхнях була мінімальною після обробки препаратами (як супернатантом, так і розчином ПАР) з концентрацією поверхнево-активних речовин 0,005 мг/мл. Наведені у табл. 2 дані показують, що препарати ПАР, отримані на етанолі за внесення дріжджового автолізату і мікроелементів, виявились більш ефективними антиадгезивними агентами, порівняно з ПАР, синтезованими за наявності сульфату міді та заліза: адгезія *E. coli* ІЕМ-1 становила 22–34 і 34–48 % відповідно.

Таблиця 2. Адгезія E. coli IEM-1 на абіотичних поверхнях після обробки ПАР A. calcoaceticus IMB B-7241, синтезованими на етанолі

Препарати	Концентрація ПАР в препаратах, мг/мл	Адгезія (%) після обробки ПАР, синтезованими за наявності у середовищі культивування							
		дріжджового автолізату, мікроелементів				$CuSO_4$, $FeSO_4$			
		пластик	лінолеум	кахель	сталь	пластик	лінолеум	кахель	сталь
1 (супернатант)	0,009	34	36	34	48	58	56	51	59
	0,005	26	27	25	34	46	41	39	47
	0,003	32	38	33	45	56	55	54	57
2 (розчин ПАР)	0,009	45	38	44	46	64	46	67	62
	0,005	31	22	29	29	46	34	42	48
	0,003	37	35	41	43	68	51	62	59

Примітка. При визначенні адгезії похибка не перевищувала 5 %.

Аналогічні закономірності спостерігали і для адгезії *B. subtilis* БТ-2 та *C. albicans* Д-6: кількість прикріплених до поверхонь клітин не перевищувала 25–38 % за обробки препаратами ПАР, отриманими при додаванні у середовище культивування дріжджового автолізату і мікроелементів, у той час

як заміна цих сполук на сульфат міді та заліза супроводжувалася підвищенням адгезії клітин до 37–59 %. Зазначимо, що препарати ПАР штаму IMB B-7241, синтезовані на етанолі, проявляли антиадгезивну дію щодо бактерій і дріжджів у на порядки нижчих (0,003–0,005 мг/мл) концентраціях, ніж рамноліпіди *P. aeruginosa* DS10-129: зниження адгезії *S. aureus* GB 2/1 та *C. albicans* GBJ 13/4A на 30 і 40% відповідно відбувалося за умови обробки силіконової поверхні препаратом ПАР у концентрації 4 мг/мл [11].

Встановлено, що як і антимікробна, так і антиадгезивна активність ПАР залежала від природи джерела вуглецю у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241. Так, після обробки поверхонь препаратами ПАР, синтезованими на етанолі за наявності дріжджового автолізату і мікроелементів, спостерігали зниження адгезії тест-культур у середньому на 60−80 %, у той час як обробка матеріалів препаратами, одержаними в аналогічних умовах культивування на гліцерині та *н*-гексадекані супроводжувалася зниженням адгезії мікроорганізмів у середньому на 40−70 і 40−50 % відповідно.

Висновки. Таким чином, результати даної роботи показують можливість використання ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 як ефективних антимікробних та антиадгезивних агентів. Встановлена залежність біологічної дії поверхнево-активних речовин штаму IMB B-7405 від умов культивування продуцента засвідчує необхідність проведення таких досліджень з метою одержання препаратів із стабільними заданими властивостями залежно від галузі їх практичного використання.

Список літератури

1. *Cortés-Sánchez Ade J., Hernández-Sánchez H., Jaramillo-Flores M.E.* Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives // Microbiol. Res. – 2013. – Vol. 168, N 1. – P. 22−32.

2. *Lotfabad B., Shahcheraghi F., Shooraj F.* Assessment of antibacterial capability of ramnolipids produced by two indigenous *Pseudomonas aeruginosa* strains // Jundishapur J. Microbiol. – 2013. – Vol. 6, N 1. − doi: 10.5812 /jjm.2662.

3. *Marchant R., Banat M.* Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants // Biotechnol. Lett. – 2012. – Vol. 34, N 9. – doi: 10.1007/ s10529-012-0956-x.

4. *Vasudevan R.* Biofilms: microbial cities of scientific significance // J. Microbiol. Exp. – 2014. – Vol. 1, N 3. − doi: 10.15406/jmen.2014.01.0014.

5. *Подгорский В.С., Иутинская Г.О., Пирог Т.П.* Интенсификация технологий микробного синтеза. – К: Наук. думка, 2010. – 327 с.

6. *Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Мащенко О.Ю.* и др. Влияние факторов роста и некоторых микроэлементов на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 // Микробиол. журнал. − 2013. – Т. 75, № 5. − С. 19−27.

7. *Pirog T.P., Konon A.D., Beregovaya K. A., Shulyakova M. A*. Antiadhesive properties of the surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Microbiology. – 2014. − T. 83, N. 6. – P. 732–739.

8. *Пирог Т.П., Савенко І.В., Шевчук Т.А.* та ін. Антимікробні властивості поверхнево-активних речовин, синтезованих в різних умовах культивування *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 // Мікробіол. журнал. – 2016. – Т. 78, № 3. – С. 2–12.

9. *Irfan M., Shahi S-K., Sharma P.* In vitro synergistic effect of biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* MTCC 441 against drug resistant *Staphylococcus aureus* // J. Appl. Pharm. Sci. – 2015. – Vol. 5, N 3. – P. 113–116.

10. *Yalcyn E., Ergene A.* Screening the antimicrobial activity of // J. Appl. Biol. Sci. – 2009. – Vol. 3, N 2. – P. 163–168.

11. *Rodrigues L., Banat I., Teixeira J., Oliveira R.* Interference in adhesion of bacteria and yeasts isolated from explanted voice prostheses to silicone rubber by rhamnolipid biosurfactant // J. Appl. Microbiol. – 2012. – Vol. 10, N 3. – P. 470–480.

ПОИСК НОВЫХ ПОЗИТИВНЫХ СВОЙСТВ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Светлана Старовойтова

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

Аннотация. В статье проанализированы виды, свойства и биодеградация таннинов. Обобщены данные литературы относительно бактерий с танназной активностью, а также перспективы их применения как основы пробиотиков.

Ключевые слова: танназная активность, пробиотические микроорганизмы, пробиотики.

Введение. В последнее время в научной литературе все чаще стали появляться данные о танназной активности микроорганизмов, в том числе и представителей микробиома человека. Танназная активность – способность расщеплять таннины. Растительная пища является главным источником таннинов - биологически активные фитонутриенты. Таннины присутствуют в различных растениях, используемых в качестве пищевых продуктов и кормов. Таннины, с одной стороны полезны для здоровья в связи с их химиопрофилактической активностью против канцерогенеза и мутагенеза, а с другой стороны – они могут быть вовлечены в формирование рака, гепатотоксическую или антипитательную активность. Таннины известны как антинутриенты - снижают эффективность преобразования организмом усвоенных питательных веществ в новые. Свойства таннинов напрямую зависят от их молекулярной массы. Чем выше молекулярная масса, тем сильнее их антипитательные эффекты и ниже биологическая активность [1].

Несмотря на то, что таннины оказывают токсическое воздействие на различные организмы, некоторые микроорганизмы устойчивы к действию таннинов и обладают способностью деградировать их в олигомерные таннины и другие полезные производные, такие как галловая кислота или пирогаллол.

Танназа - таннинацилгидролаза (ЕС 3.1.1.20), катализирует гидролиз галлоил эфирной связи таннинов. На сегодняшней момент мало научных данных об ее молекулярном строении. Это один из важнейших факторов, ограничивающий широкомасштабное применение танназы. Только бактериальная танназа проанализирована на генетическом уровне. Охарактеризована биохимия и структура танназы *Lactobacillus plantarum* [2], чаще всего встречается при ферментации растительных материалов с высоким содержанием таннинов.

Микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека имеет глубокое влияние на трансформацию пищи в метаболиты, которые могут повлиять на здоровье человека [3]. Таким образом, таннин-метаболизирующая активность может рассматриваться как один из критериев отбора пробиотических штаммов.

Характеристика и биодеградация таннинов. Таннины – водорастворимые фенольные продукты способные преципитировать белки из водных растворов. Таннины считаются вторичными метаболитами растений. Они защищают растения от вредителей и болезней, вызванных бактериями и вирусами [4, 5]. По современной классификации выделяют четыре класса таннинов: галлотаннины, эллаготаннины, конденсированные таннины и комплексные (гидролизуемые таннины) [4, 6].

Повышенное количество таннинов в почве подавляет интенсивность роста растений, отрицательно влияет на урожайность. Также присутствие таннинов усложняет некоторые технологические процессы в пищевой промышленности и ингибирует ферментативные реакции в пивоварении. Повышенное содержание таннинов в кормах для животных снижает эффективность пищеварения и, как следствие, продуктивность сельскохозяйственных животных. Установлено, что таннины, содержащиеся в продуктах питания, принимают участие в развитии некоторых видов рака [7].

Таннины, как фенольные соединения, эффективные хелаторы для ионов металлов и могут использоваться в лечении отравлений тяжелыми металлами [8]. Появляются сообщения о ингибирующем действии таннинов ВИЧ-1 [9].

Как уже упоминалось выше, таннины известны как антинутриенты. Однако, в то же время, встречается много сообщений о позитивных эффектах таннинов на здоровье человека: противоопухолевые эффекты, способность понижать артериальное давление и модулировать различные виды иммунного ответа. Вероятно, данные эффекты связаны с антиоксидантными свойствами таннинов. Эллаговая кислота является эффективным антиоксидантным таннином с противоопухолевыми свойствами. Проантоцианиды - еще один тип таннинов с высокими антиоксидантными свойствами. Принимать высокие количества таннинов не следует, поскольку они могут включаться в процесс формирования злокачественных опухолей и препятствовать нормальному пищеварению. Однако, прием адекватных количеств таннинов правильного типа является полезным для здоровья человека вследствие их воздействия на метаболические ферменты, иммуномодуляцию и другие функции [1].

Продукты анаэробного разложения многих таннинов, образующихся в ЖКТ, также могут образовывать соединения с полезными для здоровья человека эффектами, например, производные пропионовой или фенилуксусной кислот [10]. Эти соединения оказывают противовоспалительное действие при всасывании в ЖКТ, а также обладают широким диапазоном противомикробного действия, подавляя развитие патогенных микроорганизмов.

Несмотря на антимикробные свойства таннинов, много грибов, бактерий и дрожжей достаточно устойчивы к таннинам [10]. Механизмы, благодаря которым микроорганизмы обладают устойчивостью, включают модификацию, деградацию, диссоциацию таннин-субстратных комплексов, инактивацию таннинов путем связывающей способности и т.д. [11].

Плесневые грибы, дрожжи и некоторые аэробные бактерии обычно лучше подходят для деградации таннинов, однако анаэробная деградация также

имеет место быть, например, в ЖКТ. Каждая группа микроорганизмов обладает специфическими свойствами в процессе разложения таннинов. Дрожжи, проявляют активность по отношению к галлотаннинам. Бактерии деградируют галлотаннины и эллаготаннины. Грибы раскладывают все типы таннинов [10].

Известно, что в метаболизме таннинов принимает участие ряд ферментов, но основным ферментом является танназа. В природе этот фермент может быть животного, растительного и микробного происхождения. Наибольшее значение имеет именно танназа микробного происхождения [6].

Танназа оказывает последовательное действие, в результате чего происходит деградация таннинов с последующим гидролизом сложных эфирных связей и высвобождением галловой кислоты. Далее галловая кислота декарбоксилируется в пирогаллол, который, в конечном счете, превращается в пировиноградную, цисаконитовую, 3-гидрокси-5-оксигексановую кислоты и, наконец, входит в цикл трикарбоновых кислот [10]. Строение и свойства танназы зависят от: продуцента, условий культивирования и т.д. [4, 6, 12, 13].

Поскольку танназа имеет прикладное значение, особенно в фармацевтической и пищевой промышленности, важным вопросом является ее безопасность по отношению к организму человека, а также статус продуцентов танназы, как микроорганизмов группы GRAS (Generally Recognized as Safe). Известно ограниченное количество сообщений относительно безопасности танназы, однако, результаты последних исследований свидетельствуют о безопасности танназы продуцируемой бактериями рода *Lactobacillus* [12, 14].

Значение и применение танназы. Основными направлениями промышленного применения танназы является пищевая, фармацевтическая и химическая промышленность.

Важным направлением применения танназы является производство галловой кислоты. Галловая кислота - основной продукт гидролиза таннинов, используется в пищевой, косметической промышленности как мощный антиоксидант. Она также служит в качестве прекурсора в производстве

противомалярийных препаратов и как светочувствительная смола в производстве полупроводников. Сообщается об антиапоптическом действии галловой кислоты, способности защищать клетки организма человека от окислительных повреждений и выраженном цитотоксическом действии по отношению к раковым клеткам. Также галловая кислота используется как субстрат в ферментативном и химическом синтезе пропилгаллата, применяется как антиоксидант жиров и масел и производстве напитков. Конечный продукт метаболизма галловой кислоты - пирогаллол, также имеет большое промышленное значение, используется при окраске кожи и меха, проявлении фотоснимков, в производстве противоопухолевых лекарственных средств.

Практическое использование танназы все еще остается достаточно ограниченным в связи с недостаточно изученными ее свойствами, сложностью получения и очистки. Для промышленного производства используются микроорганизмы, продуцирующие фермент, более стабильный, чем растительный или животный [13].

Бактерии продуценты танназы. Впервые сообщение о способности некоторых штаммов бактерий использовать таннановую кислоту в качестве источника углеродного питания, появилось в начале 1980-х годов. С тех пор было выделено более 60 штаммов бактерий - продуцентов танназы: а именно бактерии родов *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pentococcus* и некоторые другие [13, 15-18], однако, лишь некоторые из них могут использоваться для коммерческого производства. Существует несколько методов скрининга бактерий продуцентов танназы – визуальный метод (качественная реакция) и выращивание бактерий на селективной среде с последующей покраской раствором 0,01 М $FeCl_3$ для анализа на галлотаннины [9, 18]. Для количественной оценки танназной активности продуцентов также известны различные методы, чаще всего применяются: титриметрический, колориметрический, УФ-спектрофотометрический, фотометрический [19].

Однако упомянутые методы являются трудоемкими и требуют обязательного проведения стадии культивирования и не позволяют установить полный потенциал танназной активности исследуемых штаммов. Поэтому сейчас особенно актуальны генетические исследования штаммов-продуцентов, которые дают точный результат и позволяют выявить гены, ответственные за танназную активность.

Выводы. Таким образом, перспективным является исследование наличия танназной активности у хорошо изученных пробиотических штаммов, которые могут применяться для разработки пробиотиков с танназной активностью, а значит как следствие с перспективными - антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами.

Список литературы

1. Jiménez N., Esteban-Torres M., Mancheño J.M. et al. Tannin degradation by a novel tannase enzyme present in some *Lactobacillus plantarum* strains // Appl Environ Microbiol. – 2014. – Vol. 80, № 10. – P. 2991-2997.

2. Ren B., Wu M., Wang Q. et al. Crystal structure of tannase from *Lactobacillus plantarum*.// J. Mol. Biol. – 2013. – Vol. 425. – P. 2737–2751.

3. Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J. et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. // Science. – 2012. – Vol. 336. – P. 1262–1267.

4. Chung K.-T., Wei C.-I., Johnson M.G. Are tannins a double-edged sword in biology and health? // Trends Food Sci. Technol. – 1998. - Vol. 9. – P. 168–175.

5. Aguilar C.N. Gutierrez-Sanchez G. Review: Sources, Properties, Applications and Potential uses of Tannin Acyl Hydrolase // Food Science and Technology International. - 2001. – Vol. 7, № 5. – P. 373-382.

6. Chávez-González M., Rodríguez-Durán L.V., Balagurusamy N. et al. Biotechnological Advances and Challenges of Tannase: An Overview // Food Bioprocess. Technol. - 2012. – Vol. 5. – P. 445–459.

7. Joseph J.K., Abolaji J. Effect of replacing maize with graded levels of cooked Nigerian mango-seed kernels (Mangifera indica) on the performance, carcass yield and meat quality of broiler chickens // Bioresour: Technol. – 1997. – Vol. 61. - P. 99–102.

8. Aguilar C.N., Rodríguez R., Gutiérrez-Sánchez G. et al. Microbial tannases: advances and perspectives //Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2007. – Vol. 76. – P. 47–59.

9. Das Mohapatra P.K., Mondal K.C., Pati B.R. Tannin-an effective agent against HIV-I // In: Advances in Biotechnology. Studium, USA. - 2013. – P. 419–428.

10. Bhat T.K., Singh B., Sharma O.P. Microbial degradation of tannins – a current perspective // Biodegradation. - 1998. – Vol. 9, № 5. – P.343 – 357.

11. Smith A.H., Zoetendal E., Mackie R.I. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins// Microb. Ecol. - 2005. – Vol.50, №2. – P.197–205.

12. Wu M., Peng X., Wen H. et al. Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of tannase from *Lactobacillus plantarum* // Acta Crystallogr. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.- 2013. – Vol. 69. – P. 456–459.

13. Wu M., Peng X., Wen H. et al. A novel low molecular weight acido-thermophilic tannase from Enterobacter cloacae MTCC 9125 // Biocatal. Agric. Biotechnol. - 2013. – Vol. 2. – P. 132–137.

14. Matoba Y., Tanaka N., Noda M. et al. Crystallographic and mutational analyses of tannase from *Lactobacillus plantarum* // Proteins Struct. Funct. Bioinform. – 2013. – Vol. 81. – P. 2052–2058.

15. Tahmourespour A., Tabatabaee N., Khalkhali H., Amini I. Tannic acid degradation by *Klebsiella* strains isolated from goat feces // Iran J Microbiol. – 2016. – Vol. 8, № 1. – P.14-20.

16. Esteban-Torres M., Landete J.M., Reverón I. et al. A *Lactobacillus plantarum* esterase active on a broad range of phenolic esters // Appl Environ Microbiol. – 2015. – Vol. 81, № 9. – P. 3235-3242.

17. López de Felipe F., de Las Rivas B., Muñoz R. Bioactive compounds produced by gut microbial tannase: implications for colorectal cancer development.// Front Microbiol. – 2014. – Vol. 5. – P. 684.

18. Ahrén I.L., Xu J., Önning G. et al. Antihypertensive activity of blueberries fermented by *Lactobacillus plantarum* DSM 15313 and effects on the gut microbiota in healthy rats // Clin Nutr. – 2015. – Vol. 34, № 4. – P. 719-726.

19. Jana A., Halder S.K., Banerjee A. et al. Biosynthesis, structural architecture and biotechnological potential of bacterial tannase: a molecular advancement // Bioresour Technol. - 2014. – Vol. 157. – P. 327-40.

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ ВОДИ ВІДКРИТИХ ВОДОЙМ НА ТЕРИТОРІЇ МІСТА ХАРКІВ

Максим Сугробов, Ольга Шаповалова, Леонід Стрельников

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Украина

Світлана Півненко, Тетяна Шипілова

ДУ «Харківський обласний лабораторний Центр МОЗ України», м. Харків, Украина

Abstract. In the spring time the Kharkiv river water purity sanitary – microbiological research was carried out. The experimental results were analyzed and compared with the current regulations, they indicate the permissible degree of surface water contamination.

Key words: *surface water, microbiological purity, Kharkiv river*

Вступ. Вчені встановили, що 97,5 % усіх запасів води на планеті Земля припадає на солоні води морів та океанів. Інакше кажучи, прісна вода складає лише 2,5 % світових запасів, якщо врахувати, що 75 % прісної води знаходиться в замороженому стані, 24% знаходиться під землею у вигляді підземних вод, а 0,5% зосереджено у вигляді вологи.

То виходить, що на доступні та найдешевші джерела води є ріки, озера та інші відкриті водойми, які є об’єктами поверхневих вод [1].

До факторів, які забруднюють поверхневі води, відносять змив отрутохімікатів зливовими опадами, витоки нафти і нафтопродуктів, газодимові викиди, скидання у водойми неочищених стічних вод. Останнє збільшує небезпеку розвитку таких епідемічних захворювань, як холера, черевний тиф, дизентерія та інші.

До показників, що характеризують епідемічну безпеку води, відносять санітарно – мікробіологічні, санітарно – паразитологічні та санітарно – хімічні показники забрудненості води. Вони доповнюють один одного і є тісно

взаємопов'язаними. У разі забруднення води рідкими і твердими побутовими відходами, стічними водами, екскрементами тварин і птахів змінюються показники у всіх 3-х підгрупах [2].

Критерієм безпеки води в епідемічному відношенні є відсутність патогенних мікроорганізмів – збудників інфекційних хвороб. Однак, навіть при сучасних досягненнях мікробіологічної техніки, дослідження води на наявність патогенних мікроорганізмів - досить тривалий, складний і трудомісткий процес. Тому такі дослідження проводяться не масово, а тільки в разі несприятливої епідемічної ситуації (епідускладнень).

Наприклад, при спалахах інфекційних хвороб, якщо є підозра на водний шлях передачі. В інших випадках епідемічну безпеку води оцінюють шляхом непрямої індикації можливої присутності збудника. Для цього в санітарній практиці широко використовують два непрямих санітарно – мікробіологічних показника: загальне мікробне число і вміст санітарно – показових мікроорганізмів [3].

Захист водних ресурсів від виснаження та забруднення, раціональне їх використання та очищення – найбільш важливі проблеми, які потребують невідкладного вирішення. Біотехнологічні методи очищення дозволяють підвищувати чистоту водойм без ніяких змін для навколишнього середовища та його мешканців [4]. Тому процедура очищення вод поверхневих водойм є перспективною галуззю для екобіотехнології.

Метою даної роботи було дослідження чистоти води річки Харків у весняний період за санітарно – мікробіологічними показниками.

Матеріали і методи дослідження. Проби води відбирали у квітні місяці на території Журавлівського гідропарку відповідно до вимог нормативних документів [3].

В роботі використовували мікроскопічні та санітарно–мікробілогічні методи (вивчення тинкторіальних та морфологічних властивостей бактерій, визначення загального мікробного числа (ЗМЧ), лактозопозитивних кишкових паличок (ЛКП), *E. coli*, сальмонел та шигел, експрес – аналіз якості води

«Колілерт». Результати дослідження зіставляли з нормативними документами [3, 5].

Результати і обговорення. Для визначення ЗМЧ нерозведені та розведені 1:10 та 1:100 проби води висівали глибинним методом у м'ясо-пептонний агар та інкубували для виявлення сапрофітних мікроорганізмів за різними температурами 37°С та 22 °С для визначення фекального забруднення та динаміки і інтенсивності процесів самоочищення водойму.

Через 24 год. (37°С) та 48 год. (22 °С) проводили підрахунок колоній, що виросли. Результати виражали у колонієутворюючих одиницях (КУО) в 1 $см^3$ досліджуваної проби води.

Було встановлено, що за температури 37 ^{0}С ЗМЧ дорівнювало 63,50±36,50 КУО/$см^3$, за температури 22 °С – 31,50±8,50 КУО/$см^3$, середнє значення дорівнювало 47,50±17,87 КУО/$см^3$. Таким чином, результати дослідження зразків води з ріки Харків показали, що загальне мікробне число знаходиться в межах норми (нормативне значення показника ЗМЧ складає не більше 100 КУО/$см^3$) [3]).

Визначення ЛКП проводили в ряду десятикратних розведень досліджуваних проб води, які засівали в лактозо-пептонне середовище (ЛПС). З пробірок, де спостерігався ріст бактерій, робили пересіви на середовище Ендо та середовище для визначення індолу.

За результатами досліду в досліджуваних пробах індекс ЛКП склав 900 КУО в 100 мл проби води, що не перевищує допустимі показники згідно з чинними нормативами (не більше 1000 КУО/100 мл) [3].

Для визначення наявності бактерій родів сальмонел та шигел досліджувану воду у кількості по 1000 $см^3$ на кожний вид досліджень пропускали через фільтрувальний апарат.

Для тесту на сальмонели фільтр поміщали в середовище накопичення (магнієве середовище) та інкубували при 37°С протягом 24 годин. По закінченню періоду культивування з середовища накопичення проводили

пересів на щільні живильні середовища вісмут-сульфіт агар (ВСА), Ендо, Плоскірєва.

Для проведення дослідження на шигели з пробами води проводили аналогічні маніпуляції, як і тест на сальмонели, тільки фільтр поміщали в жовчний бульйон та інкубували при 37 °С протягом (18- 20) год.

В результаті проведених досліджень росту сальмонел та шигел в досліджуваних пробах не було виявлено.

За допомогою діагностичного експрес тесту «Колілерт» проводили кількісний та якісний аналіз на коліформи та ентерококи. Аналіз води за допомогою системи «Колілерт» – це стандартизований метод діагностики, що виключає якісь суб'єктивні методи втручання та дозволяє отримувати результати тестування через 17 годин. Реакція супроводжується зміною кольору поживного середовища з зеленого на жовтий після певного інкубаційного періоду.

Тест колілерт та ентеролерт проводили наступним чином: до 100 мл проби води (для кожного досліду) додавали індикаторні реактиви експрес тесту «Колілерт». Проби переливали у спеціальні інкубаційні контейнери з комірками, далі завантажували до апарату, де контейнери герметично запаювалися. Запаковані лотки інкубували протягом 17-18 годин при 37 °С.

Розрахунки отриманих даних були співставлені з ідентифікаційною таблицею до цього тесту. Отримані результати показали наявність коліформ у кількості 920 мк/100 мл проби (у 11 з 48 комірок спостерігали зміну кольору в ультрафіолетовому випромінюванні). Ентерококи були виявлені у кількості 16 мк/100 мл проби води (14 з 48 комірок змінили колір с зеленого на жовтий).

Таким чином, результати дослідження за допомогою тестів «Колілерт» підтвердили результати санітарно-мікробіологічних досліджень, які виконували традиційними методами.

Загалом, результати проведених досліджень мікробіологічної чистоти води річки Харків у весняний період свідчать, що кількість виявлених

мікроорганізмів була допустимою і не перевищувала норми гігієнічних вимог до складу і властивостей води поверхневих водойм.

Висновки. Проведений аналіз мікробіологічної чистоти води річки Харків на території Київського району міста Харків свідчить, що за показниками загального мікробного числа, кількості лактозопозитивних кишкових паличок, *E. coli*, сальмонел, шигел та ентерококів відібрані проби не перевищують норми гігієнічних вимог до складу і властивостей води поверхневих водойм, викладених у нормативних документах.

Таким чином, вода обстеженого водоймища не створює епідемічну небезпеку здоров'ю людей та тварин.

Список літератури

1. Ходоровская Н.И. Физико-химические и гидробиологические методы исследования экологического состояния водоемов / Н.И. Ходоровская, О.Н. Кандерова. – Челябинск: ЮУрГУ, 2002. – 70 с.

2. Новиков Ю.В. Методы исследования качества воды водоемов / Ю.В. Новиков, К.О. Ласточкина, З.Н. Болдина. – Москва: Медицина, 1990. – 400 с.

3. МУ 2285-81 Методические указания по санитарно-микробиологическому анализу воды поверхностных водоемов// Утв. начальником Главного санитарно-эпидемиологического управления МЗ СССР 19.01.1981 г., N 2285-81. – МЗ СССР. - Москва. - 1981.

4. Швед О.В. Екологічна біотехнологія: Навч. посібник: у 2 кн. Кн. І / О.В. Швед [та інш.]. – Львів: Видавництво Національного університету «Львівська політехніка», 2010. – 424 с.

5. СанПиН 4630–88 Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения// Утв. Зам. МЗ СССР, Главн. гос. Сан. врач СССР 04.07.1988, N 4630-88. - МЗ СССР, Главн. сан.-эпид. Управление. - Москва. – 1988 г.

ФІТО- ТА ЦИТОТОКСИЧНІСТЬ СТЕРОЇДНИХ ГЛІКОЗИДІВ ЦИБУЛИН ALLIUM CYRILII TEN.

НаталяТолкачова

«Нікітський ботанічний сад – Національний науковий центр», м. Ялта, Крим

Олена Комаровська-Порохнявець, Діана Баранович, Богдана Коханюк, Володимир Новіков

Національний університет «Львівська політехніка», м. Львів, Україна

Abstract. The phytotoxicity and cytotoxicity of the amount of steroid glycosides from the bulbs of *Allium cyrillii Ten*. have been researched. The influence of steroid glycosides on the mitotic activity of meristem cells of *Allium cepa* roots with Allium-test has been identified.

Keywords: *Allium cyrillii* Ten., steroidal glycosides, cytotoxicity, mitotic index.

Вступ. Природні лікарські засоби рослинного походження, на відміну від традиційних синтетичних препаратів, володіють ширшим спектром біологічної дії, рідше викликають ускладнення, характеризуються низькою токсичністю і, як правило, не мають шкідливих побічних ефектів. Зумовлено це подібністю їхньої структури до фізіологічно активних речовин організму людини.

Великим класом природних сполук з групи сапонінів є стероїдні глікозиди. Завдяки високій біологічної активності та екологічній безпеці ці сполуки за останній час все більше привертають увагу дослідників. Крім того, стимуляція росту і фітоімунітету рослин стероїдними глікозидами дозволяє розглядати ці сполуки як природні адаптогени [1,2]. Перспективними з точки зору пошуку сапоніновмісних видів є рослини роду *Allium*, тим більше, що в літературі відсутні дані про стероїдні глікозиди певних видів цибулі. Саме тому

дослідження біологічної активності стероїдних глікозидів представників родини *Alliaceae* є актуальним.

В попередніх наших роботах було встановлено, що стероїдні глікозиди, які були виділені з цибулин *Allium cyrillii* Ten. володіють вибірковою бактеріостатичною дією щодо грам-позитивних бактерій, показали високі фунгіцидні показники щодо грибів *Candida tenuis* і *Aspergillus niger* та проявили рістрегуляторні властивості на рослини [3].

Метою даного дослідження було визначення фітотоксичності суми стероїдних глікозидів (**Acl**), які були виділені з цибулин *Allium cyrillii* Ten. та встановлення їх впливу на мітотичну активність клітин меристеми корінців *Allium cepa* за допомогою *Allium*-тесту.

Матеріали і методи дослідження. Фітотоксичність та цитотоксичність визначали за допомогою *Allium* сера-тесту. Насіння цибулі пророщували із дослідними та контрольними зразками розчинів, пророщували в термостаті за температури 21 °С. Відбір корінців, проводили через 48-72 години. Мітоз зупиняли обробкою корінців 0,01 % розчином колхіцину. Фіксація, фарбування та виготовлення препаратів проводилося за загальноприйнятою методикою [4]. Мітотичну активність визначали шляхом обрахування профазного, метафазного, анафазного, телофазного, а також мітотичного індексів (МІ).

Формула визначення мітотичного індексу:

МІ=П+М+А+Т/І+П+М+А+Т×100%,

де П – кількість клітин у профазі;
М – кількість клітин у метафазі;
А – кількість клітин в анафазі;
Т – кількість клітин у телофазі;
І – кількість клітин в інтерфазі.

Формула визначення індекса кожної з фаз мітозу:

ІХ=Х/П+М+А+Т×100%,

де Х – кількість клітин у певній фазі.

Результати і обговорення. Для оцінки мутагенних властивостей суми стероїдних глікозидів цибулин *Allium cyrillii* Ten. проведено серію експериментів за рекомендованим групою міжнародних експертів ВООЗ і ООН

Allium cepa-тестом. Цей тест дає змогу вивчати загальну токсичність (або фітотоксичність) на основі пригнічення росту корінців цибулі *(Allium cepa* L.*)* та цитотоксичність за допомогою мікроскопічних досліджень мітозу клітин апікальної меристеми корінців *Allium cepa* та визначення мітотичного індексу, а також хромосомних аберацій та інших аномалій мітозу в клітинах кореневої меристеми.

В досліді використовували цибулини *A. cepa*, які пророщували у водно-етанольному середовищі з додаванням досліджуваної речовини в різних концентраціях (10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} г/см^3). На першому етапі експерименту було проаналізовано лінійні розміри корінців і їх морфологічні зміни. Результати досліджень представленні в табл. 1.

Таблиця 1. Інтенсивність росту корінців Allium cepa у водно-етанольних розчинах досліджуваних зразків суми стероїдних глікозидів (Acl)

№ п/п	**Об'єкт дослідження**	**Концентрація,г/см^3**	**Довжина корінців, мм**
1.	Контроль1 (вода)	-	20,5±0,5
2.	Контроль 2 (водно-етанольний розчин)	-	9,2±0,4
3.	Acl	10^{-3}	7,4±0,3
		10^{-4}	11,5±0,2
		10^{-5}	19,3±0,3

Сума стероїдних глікозидів у концентрації 10^{-3} г/см^3 на 20 % пригнічувала ріст коренів цибулі в порівнянні з контрольним водно-етанольним розчином, проте у концентрації 10^{-5} г/см^3 лінійні розміри корінців майже в 2 рази перевищували контроль.

Наступним етапом роботи було визначення мітотичного індексу клітин меристеми корінців *A. cepa*, кількісні характеристики якого вказують на механізм стимулюючої або інгібуючої дії досліджуваних речовин.

Аналізуючи результати показників МІ (табл. 2.) спостерігається певна закономірність впливу стероїдних глікозидів, зокрема в концентрації 10^{-5} г/см^3 мітотична активність клітин меристеми цибулі була на 9 % вища в порівнянні з контролем 2. Проте, при 10^{-3} г/см^3 проліферативна здатність клітин зменшилась на 38 %, що свідчить про інгібуючий ефект стероїдних глікозидів у цій концентрації.

Таблиця 2. Динаміка фаз мітозу в клітинах апікальної меристеми А. сера під впливом суми стероїдних глікозидів (Acl)

Об'єкт	Концентрація, г/см^3	МІ, %	Індекс фаз мітозу, %			
			П	М	А	Т
Контроль1 (вода)	-	11,99±0,14	51,10±0,13	23,52±0,22	7,10±0,18	18,28±0,13
Контроль 2 (водно-етанольний розчин)	-	9,21±0,24	43,58±0,11	20,89±0,18	27,99±0,13	7,54±0,15
Acl	10^{-3}	5,77±0,12	34,51±0,21	22,54±0,23	35,17±0,27	7,78±0,15
	10^{-4}	8,41±0,21	59,52±0,12	13,09±0,24	22,63±0,17	4,76±0,22
	10^{-5}	10,06±0,31	73,82±0,15	4,76±0,16	16,66±0,14	4,76±0,12

На діаграмі продемонстровано залежність мітотичного індексу клітин апікальної меристеми корінців *А. сера* від концентрації суми стероїдних глікозидів цибулин *Allium cyrillii.*

Отримані дані щодо динаміки мітозу в кореневій меристемі *Allium сера* засвідчили, що досліджувані стероїдні глікозиди у найнижчій концентрації збільшували кількість профазних клітин, що свідчить про стимуляцію вступу клітин у мітоз, проте індекс анафази різко знижувався в порівнянні з контролем. Слід зазначити, що в концентрації 10^{-3}г/см^3 спостерігається зворотна тенденція – профазний індекс знизився, а кількість метафазних та анафазних клітин збільшилась, що свідчить про вплив досліджуваної сполуки

на функціонування веретена поділу клітини та про зниження проліферативної здатності клітин меристеми корінців цибулі.

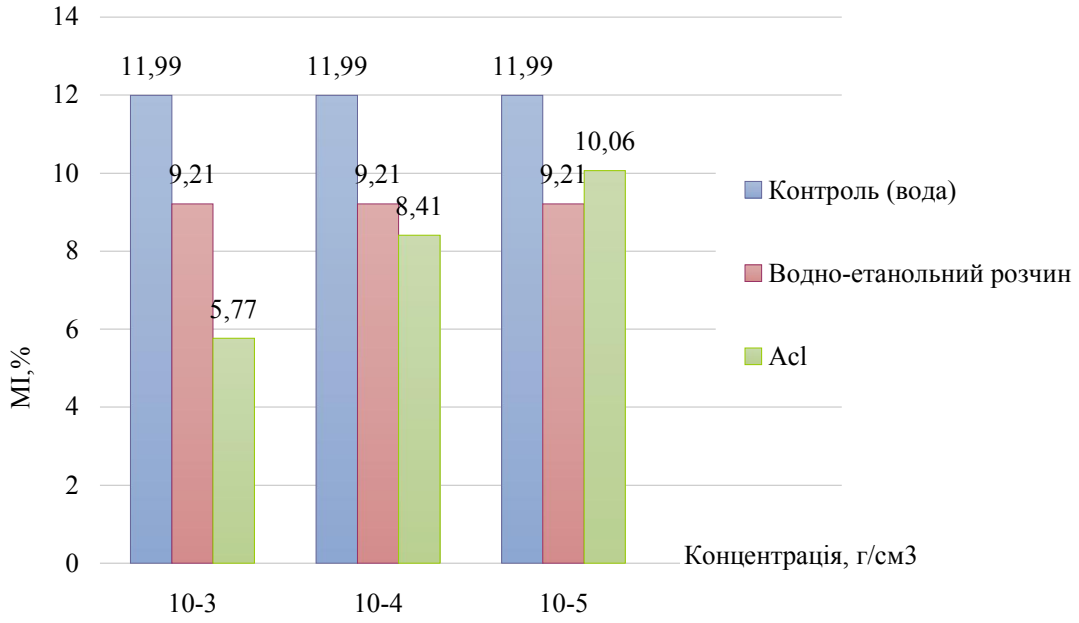


Рис. 1. Залежність MI,% від концентрації водно-етанольних досліджуваних зразків суми стероїдних глікозидів

Висновки. Встановлено, що сума стероїдних глікозидів, які виділені з цибулин *A. cyrillii* проявляє рістстимулюючу активність на корінці *A. cepa* в концентрації 10^{-5} г/см^3, а фітотоксичний ефект спостерігався у концентрації 10^{-3} г/см^3.

За допомогою цитогенетичного методу виявлено, що показники мітотичного індексу клітин меристеми корінців *A. cepa* корелюють із встановленими результатами фітотоксичності і залежать від концентрації діючої речовини, що впливає на динаміку мітотичного процесу. Найвищий показник проліферативної здатності клітин спостерігався при дії суми стероїдних глікозидів у концентрації 10^{-5} г/см^3.

Список літератури

1. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана / П.К. Кинтя, Г.В. Лазурьевский, Н.Н. Балашова и др. - Кишинев: Штиинца, 1987. - 142 с.

2. Стероидные фуростаноловые гликозиды - новый класс природных адаптогенов / И.С. Васильева, Ж.В. Удалова, С.В. Зиновьева и др. // Прикладная биохимия и микробиология. - 2009. - Т. 45, № 5. - С. 517-526.

3. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений./ З.П. Паушева – М.: КОЛОС, 1980. – 304 с.

4. Биологическая активность стероидных гликозидов, выделенных из луковиц Allium cyrilii Ten. (Alliaceae) / Н.В. Толкачева, Е.З. Комаровская-Порохнявец, В.П. Новиков // Фармация и фармакология. – 2014. - № 6(7). – С. 29-32.

КУЛЬТИВУВАННЯ *CHLORELLA VULGARIS* В УМОВАХ ВИСОКИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ НАНОСТРУКТУРОВАНОГО ЦИТРАТУ ФЕРУМУ

Марія Цвєткович, Наталія Голуб

Національний технічній університет України "Київський політехнічний інститут" ім. І. Сікорського, м. Київ, Україна

Анотація. Показано вплив наностуктурованого цитрату феруму на розвиток культури *Chlorella vulgaris.* Встановлено, що застосування феруму в комплексі з цитратом у порівнянні з сульфатом, збільшує приріст біомаси в 2,5 рази. Визначено, що при подальшому збільшенні концентрації іонів феруму, в складі наноструктурованої солі, у 8 разів по відношенню до контрольного середовища, приріст біомаси збільшується у 4 рази.

Ключові слова: мікроводорості, цитрат феруму, фотобіореактор, приріст біомаси.

Вступ. Мікроводорості - перспективні компоненти забезпечення людини мікроелементами та іншими біологічно активними речовинами. Цьому сприяє такі особливості мікроводоростей, як стійкість при культивуванні, широкі адаптаційні можливості, невибагливість до живильного середовища, висока продуктивність біомаси, висока технологічність, наявність біологічно активних речовин,здатність накопичувати значну кількість ліпідів і можливість впливати на їх якісний склад та ін.

Поживна цінність хлорели в 2 рази перевершує соєвий білок, 1 кг хлорели за харчовою цінністю дорівнює 4 – 5 кг сої. При додаванні 5 – 7 кг хлорели до 1 тонни зерна, його цінність збільшується в 1,5 рази [1]. Вміст різних біологічних макромолекул у сухій масі може змінюватись у наступних межах: білки 51 – 58%, вуглеводи 12 – 17%, і ліпіди 14 – 43%. Мікроводорості містять поліненасичені жирні кислоти, мікроелементи: залізо, мідь, марганець, цинк, молібден, бор, кобальт та інші,які необхідні для забезпечення життєдіяльності людини, тварин та птахів [2]. У 1 г маси сухої речовини хлорели знаходяться (в

мкг): каротин – 600; вітамін А – 100; В(1) – 18; В(2) – 28; В(6) – 9; В(12) – 0,1; С – 1300; провітамін D – 1000; К – 6; РР – 180; Е – до 350; пантотенова кислота – 17; фолієва кислота до 485; біотин – 0,1; лейковори– 22 [1,3-4]. Хлорелу, як біологічно-активну добавку до раціону людини, застосовують у випадку порушення гормонального фону, виразки шлунку, для поліпшення травлення, зміцнення імунітету, збалансування артеріального тиску, рівня холестерину і глюкози у крові [3].

Мікроводорості вирощують у водних розчинах, які містять необхідні для росту компоненти. Іони феруму, як один з найважливіших компонентів мінерального живлення водоростей, відіграє значну роль у накопиченні біомаси хлорели. Кількісна потреба в ферумі у мікроводоростей набагато більша ніж в інших мікроелементах. Також концентрація іонів феруму в живильному середовищі впливає на накопичення інших елементів живлення в клітинах хлорели. Оскільки ферум в різних ступенях окиснення приймає участь в багатьох фізіологічних процесах, метаболічно активними формами заліза являються ферменти, що містять гемінове залізо, цитохроми і негемінові залізопротеїди (ферредоксин та ферумфлавопротеїди). Залізовмісні білки приймають участь у окисно-відновних реакціях фотосинтезу, диханні, вуглецевому обміні. Низькомолекулярний білок ферредоксин приймає участь практично у всіх біохімічних реакціях хлоропластів: фотохімічне відновлення нітратів, циклічне і нециклічне фосфорилювання, відновлення фотосинтетично акумульованого CO_2 [3].

Тому визначення нових технологічних рішень культивування мікроводоростей з підвищеним вмістом феруму у легко засвоюваній людиною та тваринами формі для отримання біологічно-активної добавки є актуальним питанням.

Метою роботи є визначення раціональних умов культивування для одержання збалансованої за мікроелементами культури *Chlorella vulgaris* з підвищеним вмістом іонів феруму.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили за використання мікроводорості *Chlorella vulgaris* ACKU531 – 06 з колекції Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. Як базове живильне середовище використовували середовище Громова № 6 зі змінною концентрацією наноструктурованого цитрату феруму, наданим Українським державним науково-дослідним інститутом нанобіотехнологій та ресурсозбереження. Культивування проводилося у фотобіореакторі (рис.1). Для покращення доступу живильних речовин до клітин здійснювали перемішування барботажним повітрям за використання компресора Resunair-pump AC – 9601. Швидкість барботування 0,003 $м^3$/год. До барботажного повітря через систему редукторів додавали CO_2 як джерело карбону. Кількість CO_2, що вводили до фотобіореактора, варіювали в залежності від концентрації мікроводоростей.

Рис. 1. Фотобіореактор для культивування мікроводоростей

Для інтенсифікації розвитку культури мікроводоростей як джерело світлової енергії використовували природне освітлення одночасно зі штучним. Освітлення світлодіодами проводили у режимі 4 год. світло, 4 год. темрява. Співвідношення діапазонів довжин хвиль червоного (620–770 нм), зеленого

(510–550 нм) та синього (440 – 480 нм) кольорів – 2:1:1. Використання такої комбінації світлодіодів дозволяє забезпечити енергією хлорофіли *а, в* та каротиноїди фотосистем I та II, що позитивно впливає на приріст біомаси.

Для визначення швидкості приросту біомаси використовували спектральний метод аналізу за допомогою спектрофотометра ULAB 102 при довжині хвилі 460 нм.

Концентрацію та приріст клітин визначали за стандартною методикою мікроскопічним методом за допомогою камери Горяєва:

$$N = \frac{a \cdot 4000 \cdot y}{b}, \frac{\text{кл}}{\text{мкл}}$$

де N – кількість клітин, що визначається у суспензії, в 1 мм^3; a – сума клітин у суспензії, підрахованих у певному об'ємі камери; b – кількість підрахованих малих квадратів; y – розведення суспензії. Підрахунок здійснювали при малому збільшенні мікроскопа (об'єктив 8х, окуляр 10х).

Питому швидкість приросту клітин мікроводоростей μ за добу розраховували за формулою:

$$\mu = \frac{(lnN_t - lnN_0)}{t}, \text{доба}^{-1}$$

де N_t – кількість клітин мікроводоростей в одиниці об’єму в момент часу t; N_0 – кількість клітин мікроводоростей в одиниці об’єму на початку культивування; t – тривалість культивування, діб.

Результати і обговорення. За основу було взято стандартне середовище Громова № 6, джерелом феруму в якому є $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. Приріст біомаси в залежності від джерела та концентрації іонів феруму наведено в табл.1.

Виходячи з наведених результатів можна констатувати, що введення іонів феруму у вигляді наноструктурованої комплексної солі з цитратом порівняно з сульфатом феруму призводить до підвищення швидкості приросту біомаси за використання однакової кількості іонів феруму. Підвищення концентрації цитрату феруму у середовищі в 2,5 рази збільшує накопичення біомаси в 1,7 рази, і перевищує швидкість приросту біомаси на стандартному середовищі в за таких умов у 2 рази.

Таблиця 1. Приріст біомаси Chlorella vulgaris при культивуванні за різних джерел феруму

№	Джерело іонів феруму	Концентрація Fe^{2+}, мг/дм^3	Приріст біомаси, г/дм^3
1	$FeC_6H_5O_7$	2± 0,1	7,2 ± 0,2
2	$FeC_6H_5O_7$	5± 0,25	12,4 ± 0,4
3	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	2± 0,1	5,02± 0,15
4	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	5± 0,25	6,02± 0,2

На рис. 2. наведено динаміку зміни оптичної густини суспензії мікроводоростей від терміну культивування при різних концентраціях наноструктурованого цитрату феруму. Підвищення концентрації комплексу феруму у середовищі сприяє приросту біомаси. При збільшенні концентрації іонів феруму у 8 разів по відношенню до контрольного середовища (15 мг/дм^{3}до 1,87 мг/дм^3) приріст біомаси збільшується у 4 рази. Питома швидкість приросту за таких умов становить: 0,137 доба$^{-1}$ та 0,103 доба$^{-1}$, відповідно.

Необхідно також зазначити, що підвищена концентрація цитрату феруму впливає на морфо-фізіологічний стан клітин. За низького вмісту іонів феруму клітини мають менший розмір (1 – 2 мкм), утворюють колонії. При концентрації іонів феруму 15 мг/дм^3 клітини інтенсивно зеленого кольору, розміром 4 – 5 мкм, не утворюють колоній. При збільшенні концентрації феруму в середовищі живлення збільшується кількість хлорофілу *a*, що позитивно впливає на біосинтетичні процеси клітин. У заданих діапазонах концентрацій іонів феруму спостерігається істотна зміна росту клітин, тобто високий вміст наноструктурованого комплексу у живильному середовищі викликає посилене поглинання клітинами хлорели і збільшує кількість хлорофілу *a*. При цьому за використання комплексу з цитратом не впливає значення pH середовища, оскільки споживання нітрат іонів призводить до залуговування середовища. До того ж транспорт іонів феруму до клітин залежить від сполуки, що містить залізо, у живильному середовищі. При однакових його концентраціях, клітини хлорели в середовищі з сульфатом

накопичують менше іонів феруму, ніж в середовищі з цитратом.[3] Тобто, висока концентрація іонів феруму у середовищі культивування хлорели інтенсифікує активний транспорт іону до клітини, що безпосередньо впливає на функціональний стан клітин культури.

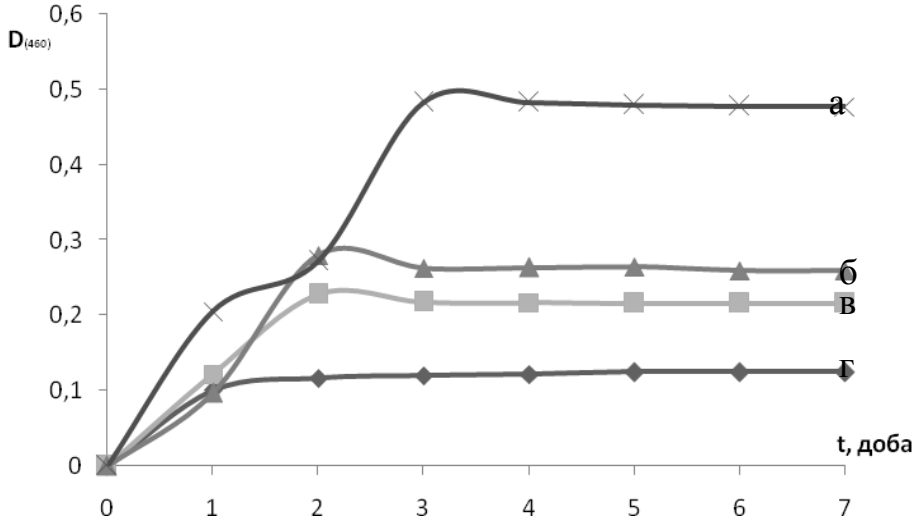


Рис. 2. Динаміка зміни оптичної густини $D_{(460)}$ суспензії мікроводоростей в процесі культивування (t) від концентрації цитрату феруму мг/дм^3:

а–1,87; б– 5; в – 10; г – 15.

Висновки. Встановлено, що введення у живильне середовище наноструктурованого цитрату феруму підвищує швидкість приросту біомаси *Chlorella vulgaris* у 2 рази по відношенню до сульфату феруму, збільшує кількість хлорофілу *a* та сприяє накопиченню іонів феруму клітиною.

Список літератури

1. US Central Intelligence Agency. "The World Factbook". – Washington D.C. – 2008. – P. 840.

2. Ceron Garcia M.C. Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricornutum* on glycerol: growth rate and fatty acid profil / M.C. Ceron Garcia, J.M. Fernandez Sevilla, F.G. Acien

Fernandez, E. Molina Grima, F. Garcia Camacho // Journal of applied phycology. – 2000. - №12. – pp. 239 – 248.

3. Упитис В.В. Макро- и микроелементі в оптимизации минирального питания микроводорослей / В.В. Упитис. – Рига: Зинатне. 1983. – 240 с.

4. Masarie K.A. Extension and integration of atmospheric carbon dioxide data into a globally consistent measurement record / K.A. Masarie, P.P. Tans // Journal of Geophysical Research. – 1995. – Vol. 100. – pp. 11593 – 11610.

5. F.C. Thomas Allnutt, Walter D. Bonner. Evalution of reductive release as a mechanism for iron uptake from ferrioxamine B by *Chlorella vulgaris* / Allnutt Thomas F.C., Bonner Walter D. // Journal Plant Physiology. – 1987. –Vol. 85. – pp. 751 – 756.

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІОФАГІВ

Марина Шеремет, Олена Івахненко, Ольга Калюжная, Оксана Стрілець, Леонід Стрельников

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Abstract. Analysis of the literature on modern approaches use bacteriophages in biotechnology. The data on the algorithm creating drugs based on bacteriophages impact by introducing the efficiency of their use.

Keywords: bacteriophage, phagoteraphia, drug

Вступ. Протягом багатьох століть інфекційні захворювання різної етіології ускладнювали існування людства, поширюючись з високою швидкістю та викликаючи епідемії з летальними наслідками [3]. Революційним кроком в медицині XX століття стало відкриття антибіотиків, здатних у широкому спектрі згубно діяти на чисельну кількість патогенів. Однак, відмічено, що повсякчасне застосування антибіотичних препаратів через деякий час призводить до появи резистентних штамів мікроорганізмів [5]. Наприклад, у 1960 році було відкрито бета-лактамний антибіотик метицилін, а вже у 1962 році знайдені метицилін-резистентні штами стафілококу; у 1985 році синтезовано цефалоспориновий антибіотик ІІІ покоління цефтазидим, а через 2 роки було виявлені стійкі до його дії штами ентеробактерій [7].

Слід відмітити, що на сьогоднішній день більше 60 % збудників інфекційних захворювань є стійкими до більшості антибіотиків, а за прогнозами ВООЗ через 10-12 років резистентність до антибіотичних препаратів буде притаманна переважній більшості мікроорганізмів [1, 8].

Причини розвитку антибіотикорезистентності бактерій за даними літератури полягають у генних мутаціях, в результаті яких обмін речовин мікроорганізму змінюється таким чином, що блоковані антибіотиком реакції

більше не являються критичними для життєдіяльності мікроорганізму або бактерії набувають здатності «викачувати» антибіотик з клітини [5].

Таким чином, загроза виникнення «епідемії резистентності» робить актуальним пошук альтернативних шляхів боротьби з інфекційними захворюваннями.

Результати і обговорення. Перспективним активним фармацевтичним інгредієнтом є бактеріофаги – віруси, які характеризуються специфічною здатністю до вибіркового інфікування бактеріальних клітин, які належать до одного штаму або антигенно-гомологічним штамам одного роду [4]. Бактеріофаги є найбільш поширеними організмами на Землі, їх можна виділити зі стічних вод, ґрунту, води прісної та морської тощо [1].

Розрізняють вірулентні фаги, дія яких призводить до лізису бактеріальної клітини, і помірні фаги, що інтегрують ДНК в бактеріальний геном та утворюють лізогени [3]. Життєвий цикл бактеріофагів може проявлятися у формі продуктивної інфекції, коли фаг розмножується в клітині та виходить з неї, редуктивної інфекції (фаг не розмножується, інтегрується в хромосому клітини-хазяїна та перетворюється у профаг), абортивної інфекції (взаємодія фагу з клітиною переривається та фаг гине) [2].

У зв’язку з цим виділяють декілька сучасних напрямів застосування бактеріофагів. По-перше, бактеріофаг-опосередкований біоконтроль – обробка сільськогосподарських рослин та тварин перед їх надходженням на переробні заводи. Наприклад, фаговий препарат «Агріфаг» (Omnilytics, США), призначений для боротьби із *Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria* та *Pseudomonas syringae pv. tomato.* Фаговмісний продукт «Біотектор» корейської компанії CheilJedang дозволяє контролювати наявність бактерій роду *Salmonella* у м’ясі свійської птиці. По-друге, фаговий біопроцесінг – зниження контамінації та подовження тривалості зберігання овочів, фруктів, риби тощо у процесі їх промислової переробки. Наприклад, препарат «LISTEX P100» (EBI

Food Safety, Нідерланди) дозволяє уникнути зараження харчової продукції клітинами *Listeria monocytogenes* [4-6, 10, 11].

Також слід виділити новий напрямок фаг-опосередкованої біодезінфекції, тобто застосування бактеріофагів для дезінфекції приміщень та обладнання лікувально-профілактичних закладів та харчових виробництв [6]. Фагоідентифікація дозволяє впевнено визначати види потенційно небезпечних мікроорганізмів за допомогою фагових діагностикумів [5, 7].

Окрему ланку займає застосування бактеріофагів у медицині та фармації. Так, фагопрофілактика дозволяє знизити ризик розвитку спорадичних випадків та епідемічних спалахів кишкових та низькоміальних інфекцій, фагокосмецевтика стає альтернативою бактеріостатичним косметичним та гігієнічним засобам, що використовуються при інфекційних захворюваннях шкіри (акне, піодермії). Крім того, завдяки високій специфічності бактеріофаги є перспективним активним фармацевтичним інгредієнтом в терапії інфекційних захворювань різного ґенезу [5, 9].

Наукові дослідження останніх років показали доцільність розробки нових лікарських засобів на основі полівалентних комплексів бактеріофагів. Протокол створення нового лікарського препарату на основі бактеріофагів рекомендує, в першу чергу, ідентифікацію патогенних мікроорганізмів – бактерій-мішеней, визначення їх чутливості до антимікробних засобів, виділення та селекцію вірулентних штамів бактеріофагів. Надалі необхідно проводити контроль відсутності помірних фагів, інтегрованих в бактеріальні клітини, та отримати бактеріофаги у високому титрі на відповідному щільному середовищі. Отриманий лізат необхідно піддати стерильній фільтрації, видалити ендотоксини та перевірити стабільність бактеріофагів під дією факторів агресивного зовнішнього середовища (температури, pH). Наприкінці після створення готового «коктейлю бактеріофагів» необхідно оцінити їх безпеку та ефективність у доклінічних та клінічних випробуваннях [6].

На сьогоднішній день бактеріофаги досліджено у терапії таких захворювань як сепсис, ранові інфекції, остеомієліт, інфекції сечостатевої системи та шкіри. У фаготерапії застосовують такі лікарські форми: рідкі - суспензії; таблетки; аерозолі та м'які засоби зовнішнього застосування.

Серед шляхів уведення бактеріофагів парентеральний спосіб набув найбільшої популярності за рахунок миттєвої доставки фагів у системний кровообіг. Слід зазначити, що на ступінь ефективності в цьому випадку впливає специфічність сайту доставки. Так, найефективнішим слід вважати внутрішньовенний спосіб уведення, менш - внутрішньом'язовий, підшкірний та внутрішньочеревний [2, 4, 8].

Пероральне застосування бактеріофагів є доцільним при лікуванні гастро- та системних інфекцій, але обмежується необхідністю захисту фагів від дії високої кислотності шлункового соку та протеолітичних ферментів кишківника. Вирішення цього питання можна здійснити за рахунок технології мікроінкапсулювання [8].

Місцеве застосування фагів здійснюється, перш за все, при лікуванні ранових інфекцій. Так, розроблено гель для лікування піодермій та розчин для просочування бинтів при ранозагоєнні. Розроблено гідрогель для місцевого застосування «Фагобіодерм», який містить комплекс бактеріофагів проти *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* та *Streptococcus spp*. Існують відомості про позитивний результат клінічних випробувань застосування бактеріофагів у лікуванні хронічного отиту, спричиненого антибіотикорезистентними штамами *Pseudomonas aeruginosa*. Крім того в останні роки проводяться дослідження з можливості застосування фагів в інгаляційних системах. Так, наявні дані щодо ефективності доставки бактеріофагів інгаляційно за допомогою небулайзерів, крапель та сухої пудри довели можливість їх застосування при лікуванні муковісцидоза легенів. Використання бактеріофагів в стоматології для попередження перебігу інфекційного процесу у ротовій порожнині було обґрунтовано при дослідженні

впливу фагів на життєздатність *Enterococcus faecalis,* збудника інфекційного захворювання, що найчастіше розвивається при видаленні та імплантації зубів, доведено їх ефективність [3, 7, 8].

Нажаль, на фармацевтичному ринку України на сьогоднішній день наявна тільки рідка форма бактеріофагу стафілококового (Біофарма, Україна), яка призначена для орального, нашкірного та вагінального застосування при терапії стафілококових інфекцій [2]. На кафедрі біотехнології НФаУ розроблено склад та технологію двох лікарських форм з бактеріофагами: гель з бактеріофагом стафілококовим для лікування піодермій та медичний аерозоль для лікування гінекологічних захворювань. Ці лікарські засоби знаходяться на стадії доклінічних досліджень.

Висновки. З урахуванням кількості інфекційних захворювань, видів патогенів та типів органів-мішеней розробка складу та технології лікарських засобів на основі полівалентних комплексів бактеріофагів є нагальною потребою фармацевтичної практики в Україні. Причому слід враховувати вплив зовнішніх факторів на активність фагів, а вибір шляху доставки активного фармацевтичного інгредієнту здійснювати на основі проведених детальних експериментальних досліджень.

Список літератури

1. *Зурабов А.Ю., Каркищенко Н.Н., Попов Д.В., Жиленков Е.Л., Попова В.М.* Создание отечественной коллекции бактериофагов и принципы разработки лечебно-профилактических фаговых препаратов // Биомедицина. – 2012. № 1. – С. 134 — 138.

2. *Карабелеш Е.Е., Ткаченко С.А., Панкратов С.М...* Применение бактериофагов как концепция лечебного и профилактического направления в медицине. //Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2008. -№ 1 (11). С. - 135-139.

3. *Крылов В.Н.* Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага: надежды, перспективы, проблемы безопасности, ограничения // Генетика. - 2001. № 7. С. - 869-887.

4. *Viertel TM, Ritter K, Horz HP.* Viruses versus bacteria-novel approaches to phage therapy as a tool against multidrug-resistant pathogens // J Antimicrob Chemother. – 2014. № 69: 2326-2336.

5. *Zueva L.P., Aslanov B.I., Dolgiy A.A., Goncharov A.E., Arhkangelskiy A.I.* Bacteriophages as evolution factors of pathogens and remedy for treatment and prevention of infections Epidemiology and Infectious Diseases // Current Items. – 2012 №1. – С. 9—13.

6. *Kutateladze M, Adamia R.* Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics // Trends in Biotechnology. – 2010. №28. С. - 591-595.

7. *Clark JR, March JB.* Bacteriophages and biotechnology: vaccines, gene therapy and antibacterials // Trends Biotech. – 2006. № 24. С. - 212–218.

8. *Harper D, Parracho H, Walker J, Sharp R, Hughes G, Werthén M, Lehman S, Morales S.* Bacteriophages and biofilms // Antibiotics. – 2014. № 3. С. - 270–284.

9. *Mahony J, McAuliffe O, Ross RP, van Sinderen D.* Bacteriophages as biocontrol agents of food pathogens // Curr Opin Biotechnol. – 2011.№ 22. С - 157-163.

10. *Shesh Raj Patel, Ajay Kumar Verma, Vijay Chandra Verma* Bacteriophage therapy - looking back in to the future // The Battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educational programs. - 2015. - P. 284-294.

11. *E. M. Ryan, S. P. orman, R. F. Donnelly, B. F. Gilmore* Recent advances in bacteriophage therapy: how delivery routes, formulation, concentration and timing influence the success of phage therapy // Journal of Pharmacy and Pharmacology. - 2011. - Vol. 63. - P. 1253-1264.

СЕКЦІЯ 6. МОЛЕКУЛЯРНА ТА НАНОБІОТЕХНОЛОГІЇ

ВПЛИВ НОВОЇ АЛЛОТРОПНОЇ ФОРМИ ВУГЛЕЦЮ – ФУЛЕРЕНУ C_{60} НА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ МИШЕЙ

Вікторія Дарчик, Вікторія Красінько

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Тетяна Дубілей

ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», м. Київ, Україна

Abstract. In experiments on male and female CBA/Ca mice 12 – 13 months old the effect of fullerene C_{60} dissolved in olive oil on the life span was studied. Chronic use of the drug did not significantly affect the survival of males, but slightly improved the survival rate of females. It is assumed that the negative effect of olive oil on the survival of animals could significantly reverse the effects of fullerene C_{60} therefore geroprotective properties of this compound require further research.

Keywords: carbon nanostructures, fullerene C_{60}, mice, life span.

Вступ. Вільнорадикальна теорія старіння Денхама Хармана передбачає, що причиною багатьох вікових змін є окислювальне пошкодження структур організму [1]. Якщо в організмі в процесі старіння продукція активних форм кисню переважає над активністю антиоксидантних систем, виникає окислювальний стрес. Антиоксидантна система у багатьох аспектах є основою антистаріння, від якої певною мірою залежить тривалість життя організму.

Сьогодні в багатьох країнах світу проводять теоретичні та практичні дослідження в галузі нанонауки, розробляють нові нанотехнології, впроваджують їх у різні сфери діяльності людини [2].

Виходячи з вищевказаного, пошук дієвих засобів профілактики та лікування вік-залежної патології з використанням сучасних перспективних наноматеріалів є нині надзвичайно актуальним.

Серед наноматеріалів у запобіганні прискореного старіння значна увага приділяється ролі фулеренів [3]. Однією з властивостей фулерену C_{60} є його здатність впливати на процеси вільно-радикального окиснення.

Фулерен C_{60} інколи називають «губкою для радикалів». Так, у роботі [4] показано, що одна молекула може приєднати 34 метильні радикали. Завдяки такій здатності фулерени діють у біологічних системах як уловлювачі вільних радикалів. Оскільки гіперпродукція кисневмісних радикалів є причиною виникнення багатьох клінічних патологій, антирадикальна активність фулеренів C_{60} та їхніх похідних відкриває перспективи застосування цих сполук як антиоксидантів.

Крім того, водорозчинні або гідратовані фулерени попереджують клітинний апоптоз, тобто так звану запрограмовану загибель клітин. Водорозчинні фулерени мають адаптогенні й антистресові властивості, пов’язані з позитивним впливом на функції центральної нервової системи, а також вони здатні захищати нервову тканину від ушкоджуючої дії вільних радикалів, мають протизапальну дію, є високоефективними гепатопротекторами при терапії й профілактиці патологій печінки різної етіології, у тому числі при цирозі [5, 6].

В цілому, фулерени проявляють загальну позитивну дію, спрямовану на підтримку нормально функціонуючого організму й на гальмування розвитку негативних проявів, пов’язаних з віковими змінами.

В літературі наведено приклади протипухлинної дії похідних фулерену. Так, C_{60} суттєво знижує швидкість росту пухлинних клітин лінії Hela 33, а також клітин епідермальної саркоми Нер-2 на стадії утворення мітотичного веретена [7].

В одній з нещодавніх робіт показана геропротекторна властивість фулерену C_{60}. При дослідженні токсичності фулерену C_{60}, розчиненого в оливковій олії, французькі дослідники виявили, що щурі, які приймають регулярно розчин фулерену C_{60}, живуть довше, ніж ті, яким давали просто оливкову олію або звичайну воду. Тривалість життя збільшувалася не менше ніж в два рази. Половина тварин, які отримували фулерен, жили до 62 місяців (найстаріший щур дожив до 5,5 років). При цьому в контрольній групі (зі звичайною дієтою) тривалість життя 50 % тварин становила 30 місяців, а найстаріші щурі дожили лише до 37 місяців. Тварини, які одержували оливкову олію без фулерену, жили трохи більше – 50 % з них доживали до 40 місяців, а найстаріший щур дожив до 58 місяців [8]. Геропротекторну дію фулерену C_{60} автори статті приписують його антиоксидантним властивостям. Оскільки ці дослідження були проведені на невеликих групах тварин, їх результати потребують перевірки.

Мета даної роботи – вивчити вплив розчиненого в оливковій олії фулерену C_{60} на тривалість життя мишей.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведені на самцях і самицях мишей лінії СВА/Са розводки віварію ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України» за дотримання міжнародних принципів Гельсінської декларації про гуманне поводження з тваринами. Миші утримувалися в клітках по 4-5 особин при температурі 22 – 23 °С, освітленості 12/12 годин світло/темрява і вільному доступі до води та стандартного корму. На момент початку експерименту вік мишей становив 12 – 13 місяців, маса - 25 – 30 г.

Тварини були розподілені на 3 групи (дві контрольних та одну дослідну) по 40 самців та 42 самиці в кожній. При розподілі в групи проводилася рандомізація по масі тіла, руховій активності (методом відкритого поля) та силі кінцівок. Миші першої контрольної групи отримували воду, другої контрольної – оливкову олію, дослідної групи – C_{60}-фулерен, розчинений в

оливковій олії. Всі речовини вводилися per os за допомогою зонда за наступною схемою: 7 днів –1 раз на день; 7 тижнів – 1 раз на тиждень; 5 місяців – 2 рази на місяць. Дозування C_{60} було призначено згідно рекомендацій виробника – 3,4 мг/кг маси тіла.

В процесі проведення експерименту реєстрували дати смерті мишей. Померлих тварин піддавали посмертному огляду на наявність макроскопічних змін внутрішніх органів. Органи зважували та розраховували індекс маси (маса органу * 100 %/масу тіла тварин).

Статистичну обробку одержаних даних проводили за допомогою програми Excel.

Результати та їх обговорення. Як видно з рисунку, у мишей обох статей споживання оливкової олії негативно вплинуло на тривалість життя. Так, в групі самців, які отримували воду, смертність у віці до 600 діб складала 18 %, до 900 діб – 65 %, а в групі, яка отримувала оливкову олію – відповідно 25 % та 82 %. Аналогічна тенденція спостерігалася у самок – 21 % і 86 % проти 17 % та 80 % .

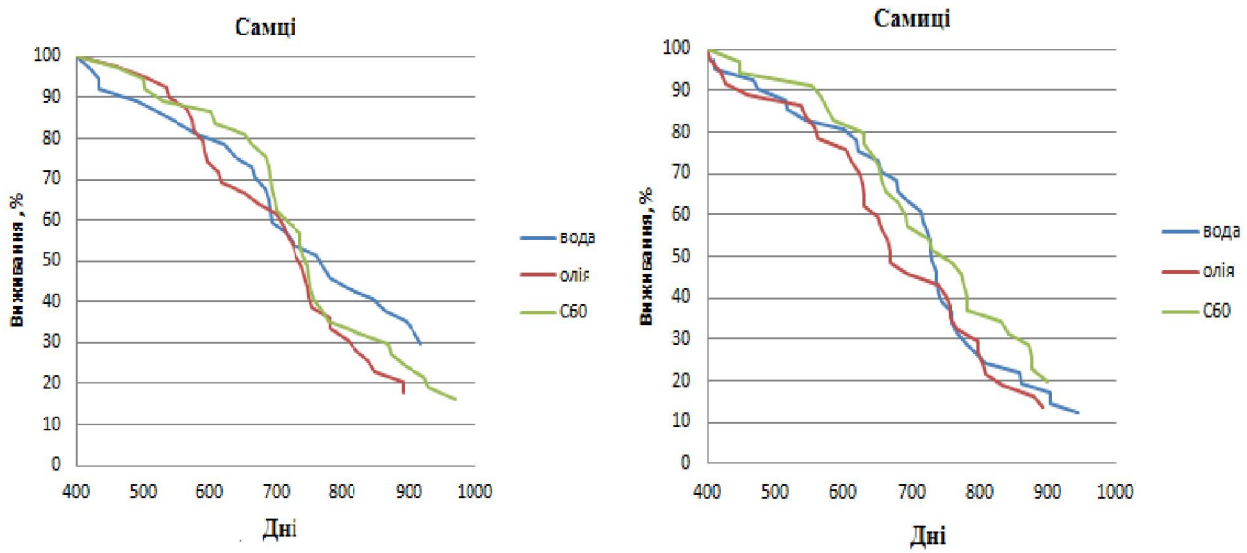


Рис. 1. Криві виживання мишей, що отримували воду, оливкову олію та фулерени C_{60}

Самці, що споживали $C_{60,}$ на початку експерименту демонстрували дещо нижчі показники смертності у порівнянні з контролем (на 8 % по відношенню до води та на 15 % – до олії), а самки – такі ж, як і миші, що отримували воду. У другій половині експерименту смертність самців дослідної групи стала вищою, ніж у самців, які отримували воду , але залишилася нижчою, ніж у тих, що отримували олію. У самок смертність особин, які отримували фулерени, була нижчою у порівнянні з самками обох контрольних груп.

При посмертному зважуванні мишей та розрахунку індексу маси нирок, селезінки, печінки, легенів та серця ні у самців, ні у самок не було виявлено статистично значимих відмінностей між дослідною та контрольними групами, що підтверджує відомі з літератури дані про низьку токсичність фулерену C_{60} (*таблиця 1.*).

Таблиця 1. Посмертна маса тіла та індекс маси органів мишей (M±m)

Групи тварин	Посмертна маса тіла, г	Індекс маси, %				
		Нирки	Селезінка	Печінка	Легені	Серце
Самці						
Контроль (вода)	19,1±5,06 (18)	1,81±0,46 (15)	0,56±0,86 (15)	4,83±2,20 (16)	1,61±0,53 (15)	0,79±0,16 (15)
Контроль (олія)	19,1±3,00 (22)	1,80±0,40 (20)	0,36±0,18 (20)	4,73±1,37 (20)	2,13±1,16 (20)	0,74±0,14 (20)
C_{60}	19,8±2,98 (23)	1,81±0,40 (16)	0,37±0,12 (16)	5,17±2,01 (16)	1,63±0,62 (16)	0,82±0,30 (16)
Самиці						
Контроль (вода)	19,3±5,29 (25)	1,62±0,55 (21)	0,68±0,54 (21)	5,39±2,26 (21)	2,27±1,20 (19)	0,67±0,22 (19)
Контроль (олія)	19,0±4,80 (24)	1,48±0,32 (12)	0,66±0,42 (12)	5,30±1,99 (12)	2,72±1,74 (12)	0,69±0,21 (12)
C_{60}	18,7±4,27 (21)	1,52±0,50 (13)	0,89±1,15 (13)	5,32±1,77 (13)	1,67±0,44 (13)	0,72±0,16 (13)

Примітка. В дужках – кількість тварин, яких піддавали розтину.

Висновки. Проведені експерименти не виявили суттєвого впливу фулерену C_{60} на тривалість життя мишей. Незначний позитивний ефект спостерігався у самок, які отримували препарат, порівняно з тими, які отримували розчинник – оливкову олію. Слід, однак, зазначити, що негативний вплив оливкової олії на виживаність тварин міг значною мірою нівелювати ефект фулерену, тому геропротекторні властивості цієї сполуки потребують подальших досліджень.

Список літератури

1. *Анисимов В. Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения: В 2 т. – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Наука. – 2008. – 434 с.

2. *Walker J.M., Raply R.* (eds.). – Molecular Biology and Biotechnology, 5th Ed, RSC Publishing. – 2009. – 604 p.

3. *Prylutska S. V., Burlaka A. P., Prylutskyy Yu. I. et al.* Pristine C_{60} fullerenes inhibit the rate of tumor growth and metastasis // Exp. Oncol. – 2011. – V. 33. – P. 162 – 164.

4. Bobylev A. G, Kornev A. B, Bobyleva L. G et al. Fullerenolates: metallated polyhydroxylated fullerenes with potent antiamyloid activity // Org Biomol Chem. – 2011. – V. 9. – P. 5714 – 57199.

5. *Andrievsky G. V.* Hydrated fullerenes as prototypes of new class of drugs, which can be applied as powereul and «Wise» antioxidants, adjuvants, homeopathic remedies, food supplements and cosmetic ingredients : Book of Abstr. : Ukrainian-German Simposium on Nanobiotechnology, December 14–16, 2006, Kyiv, Ukraine / G. V. Andrievsky, V. K. Kloochkov.

6. *Копил С. А., Крічковська Л. В.* Перспективність ветеринарних препаратів з використанням нанотехнологічної сировини // Біологія тварин. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 445 – 450.

7. *Прилуцька С. В.* Застосування комплексів фулерену C_{60} із протипухлинними препаратами у хіміотерапії // Biotechnologia acta. – V. 7, No 3. – 2014. – P. 9 – 20.

8. *Baati T., Bourasset F., Gharb N. et al.* The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of 60 fullerene // Biomaterials. – 2012 . – V. 33. – P. 4936 – 4946.

ВИКОРИСТАННЯ СИЛІКАЛІТІВ З МЕТОЮ СТВОРЕННЯ НОВОГО БІОСЕНОСРА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КРЕАТИНІНУ

Ольга Мамчур, Ігор Пилипонський

Національний університет харчових технологій, м. Київ,Україна

Світлана Марченко, Олександр Солдаткін, Сергій Дзядевич

Інститут молекулярної біології і генетики НАНУ, м. Київ, Україна

Abstract. Silicalite particles was used for surface modification of pH-sensitive field-effect transistors and adsorption of deiminase creatinine (CD) to develop new creatinine-sensitive biosensors. As compared with the biosensors based on CD immobilized in glutaraldehyde vapours the obtained biosensors had improved analytical characteristics (a 3-fold increase in sensitivity to creatinine, high signal reproducibility and storage stability). In the future, the proposed biosensor can be successfully used for determination of creatinine concentration in biological samples.

Keywords*:* pH-sensitive field-effect transistor; biosensor; creatinine; silicalite; creatinine deiminase.

Вступ. Розробка нових біосенсорів для визначення різноманітних речовин та покращення аналітичних характеристик цих пристроїв є одним з актуальних напрямків біосенсорики. Як відомо, процес іммобілізації біоматеріалу це найбільш важлива стадія розробки біосенсорів, відповідно вдосконалення методик іммобілізації з метою розробки нових перетворювачів із заданими характеристиками є перспективним [1-2].

На сьогодні, найпростішим методом іммобілізації ферментів є адсорбція. В якості адсорбенту може бути використаний будь-який матеріал з мікропористою структурою. Нові можливості оптимізації методів адсорбції відкриваються завдяки швидкому прогресу в галузі синтезу мікро- та наночастинок з заданими властивостями [3-5]. Зокрема, до таких наночастинок

належать цеоліти. Завдяки пористій структурі, каталітичній активності і гідротермальній стабільності, цеоліти використовують в якості адсорбційних носіїв [5-7]. Одним з найбільш вивчених цеолітів є силікаліт, який відомий своєю високою адсорбційною здатністю, гідрофобною та органофільною селективністю [7]. Тому ми вирішили, використати силікаліт, як носій для адсорбції КД, з метою створення біосенсора для визначення креатиніну.

Матеріали і методи дослідження.

Матеріали. Креатиніндеіміназа (КД) мікробного походження (КФ 3.5.4.21) з активністю 36 од.акт./мг фірми «Sigma-Aldrich» (Японія); бичачий сироватковий альбумін (БСА) (фракція В), 25%-ий водний розчин глутарового альдегіду і креатинін фірми "Sigma-Aldrich Chemie" (Німеччина); ДЕАЕ-декстран – фірми Fluka Biochemica (Франція); лактітол – від Fluka (Швейцарія). Силікаліт з розміром кристалів 450 нм було синтезовано в Середньосхідному Технічному Університеті (Анкара, Туреччина). Як буфер використовували фосфатний розчин (KH_2PO_4-NaOH) фірми "Merck" (Німеччина).

Потенціометричні перетворювачі та вимірювальна установка. В роботі використані потенціометричні перетворювачі на основі pH-чутливих польових транзисторів (pH-ПТ) (виготовлених в Інституті фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова). pH-чутливість сенсорних елементів становить близько 40 мВ/pH, що при наявній крутизні перехідної вольт-амперної характеристики транзистора в межах 400 − 500 мкА/В забезпечувало pH- чутливість струму каналу порядку 15 − 20 мкА/pH. pH-ПТ разом з Ag/AgCl електродом порівняння поміщались до вимірювальної комірки об’ємом 1,5 мл та підключались до аналого-цифрового електрохімічного пристрою (виготовленого в Інституті фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова), що керувався спеціальною програмою з персонального комп’ютера.

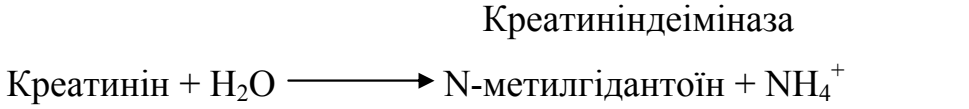
Отримання силікаліт-модифікованих електродів. Для модифікації перетворювачів шаром силікаліту, спочатку готували їх розчини. Наважки силікалітів розчиняли в 5 мМ калій-фосфатному буфері, pH 7,4, кінцева

концентрація яких складала 10 %. Далі отримані розчини обробляли ультразвуком на водяній бані дві години, з метою отримання гомогенного розчину. Після цього розчини силікалітів наносили на чутливі області pH-ПТ об'ємом 0,2 мкл на кожну та розміщували у сухо-жаровій шафі на 20 – 25 хв при температурі 70 – 100°С для фіксації на поверхні pH-ПТ. Потім датчики, витримували при кімнатній температурі близько 10 хв, відмивали робочим буфером від незв'язаних частинок силікаліту.

Адсорбція КД на силікалітах. Для отримання мембран ферменту ми використовували робочий гель на основі 10% КД. Для його приготування використовували наважку ферменту, який розчиняли у 20 мМ калій-фосфатному буфері, pH 7,4, з додаванням 10% сироваткового альбуміну бика (БСА), 10 % гліцеролу, 4% лактітолу, 0,4% DEAE-декстрану. До складу гелів додавали гліцерин для стабілізації ферменту при іммобілізації та запобігання передчасному підсиханню розчину, нанесеного на поверхню перетворювача. В свою чергу, БСА та лактітол в складі ферментних гелів були використані як стабілізуючі агенти. Для приготування мембрани порівняння використовували 20% розчин БСА, 10 % розчин гліцерину у 20 мМ калій-фосфатному буфері pH 7,4. Після іммобілізації перетворювачі сушили на повітрі протягом 30 хв, а потім відмивали від незв'язаних компонентів у буфері протягом 20 хв.

Методика вимірювання. Робота проводилась в 5 мМ калій-фосфатному буферному розчині, pH 7,4. Перед початком роботи датчики з іммобілізованими мембранами протягом 20 – 30 хв відмивали від незв'язаних компонентів до стабілізації базової лінії. Концентрацію субстрату змінювали, додаючи певні аліквоти вихідного концентрованого розчину. Після отримання кожного відгуку сенсор відмивали від продукту, змінюючи робочий буфер мінімум 3 рази кожні 2 хв. Усі експерименти проводили з повторюваністю у 3 – 5 разів.

Результати і обговорення. Принцип роботи розробленого креатинін-чутливого біосенсора заснований на реакції гідролізу креатиніну, що каталізується креатиніндеіміназою:



У ході реакції, перетворювачем реєструється зміна pH, індукована гідролізом креатиніну і пропорційна концентрації субстрату в аналізованому розчині.

Основною ідеєю даного дослідження було порівняти основні аналітичні характеристики біосенсорів на основі запропонованої методики іммобілізації – адсорбції ферменту на силікаліті з біосенсорами на основі традиційної методики – іммобілізації в парах ГА. Далі проводили тестування роботи обох типів біосенсорів на основі різних варіантів іммобілізації біомембран. В результаті були побудовані калібрувальні криві залежності величини відгуків обох типів біосенсорів від концентрації креатиніну в робочому буфері (*рис.1*).

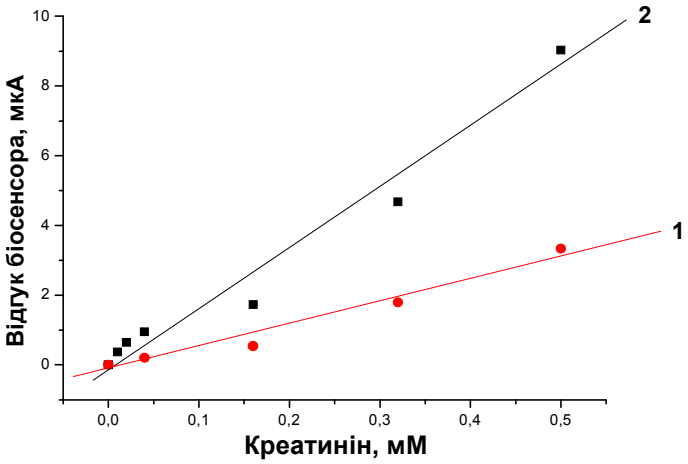


Рис. 1. Калібрувальні криві креатинін-чутливих біосенсорів на основі різних варіантів іммобілізації: ковалентна зшивка в парах ГА *(1)*; адсорбція на силікаліті *(2)*.

Вимірювання проводилися в 5мМ фосфатному буферному розчині, pH 7,4.

Після ретельного аналізу отриманих результатів по тестуванню обох варіантів біосенсорів, встановлено, що використання методу адсорбції ферменту на силікаліті дозволяє підвищити чутливість біосенсора до креатиніну в 3 рази, зменшити час відгуку і час регенерації в 3 – 4 рази

(загальний час аналізу) та в 2 рази знизити мінімальну межу визначення, порівняно з ковалентною зшивкою в парах ГА (*табл. 1.*).

Таблиця 1. Порівняння основних характеристик креатинін-чутливих біосенсорів

	Мінімальна межа визначення, μM	Час відгуку, с	Час регенерації, с	Чутливість біосенсора, μA/мМ
Іммобілізація КД в парах ГА	10	240	300	6,68
Адсорбція КД на силікаліті	5	90	80	18,06

Оскільки біосенсори на основі іммобілізації КД шляхом адсорбції на силікаліті характеризувались кращими параметрами, порівняно з біосенсорами на основі традиційного методу іммобілізації, тому необхідно було довести, що інші характеристики даного типу біосенсорів будуть теж достатніми.

Найбільш важливими робочими характеристиками кожного біосенсора є відтворюваність сигналу при безперервній роботі, його операційна стабільність та стабільність при зберіганні. Тому наступним етапом дослідження була перевірка цих параметрів для біосенсора на основі нового методу іммобілізації (адсорбції КД на силікаліті).

Для перевірки відтворюваності сигналів біосенсора, ми протягом одного робочого дня отримували відгуки біосенсора на одну концентрацію креатиніну – 1мМ (*рис.2*). Як видно з графіку, відгуки біосенсора були відтворюваними з відносним стандартним відхилення (RSD) = 2,6 %.

Для дослідження стабільності біосенсорів при зберіганні, в перший день після їх приготування було отримано відгуки на 1 мМ креатиніну. Величини відгуків з початковою активністю були прийняті за 100%. Далі біосенсори зберігали в спеціальному буфері (10мМ фосфатний буфер, pH 7,4 з додаванням

стабілізаторів та консервантів: 1мМ ЕДТА; 1мМ дитіотриетол (ДТТ); 0,1 % NaN_3) при температурі +4 ˚С.

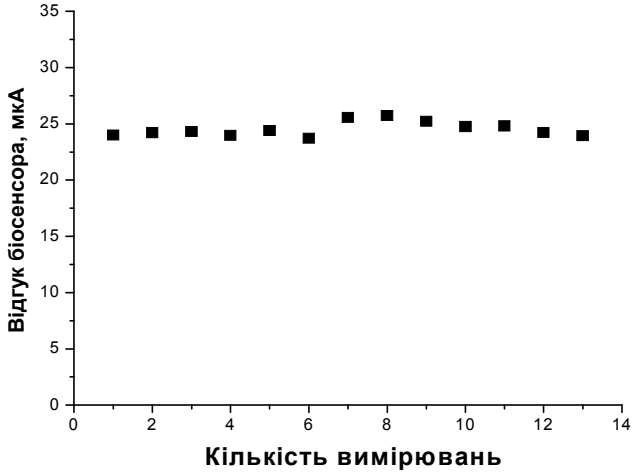


Рис. 2. Відтворюваність сигналів біосенсора на основі КД адсорбованої на силікаліті.

Вимірювання проводилися в 5мМ фосфатному буферному розчині, pH 7,4. Концентрація креатиніну – 1 мМ.

Подальші виміри проводились через певні проміжки часу (*рис.3*). Було показано, що після року зберігання активність КД, адсорбованої на силікаліті знизилась лише на 43,3 %. Даний показник є дуже високим, оскільки відомо, що КД відноситься до нестабільних ферментів. Використання силікаліту, як носія при іммобілізації могло вплинути на довготривале зберігання мембрани, оскільки відома висока толерантність цеолітів до мікроорганізмів.

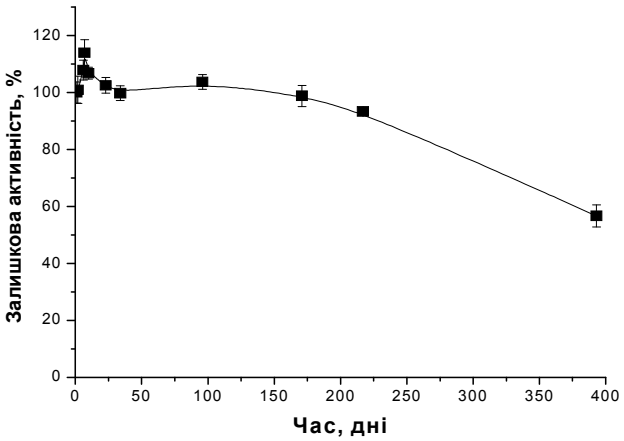


Рис. 3. **Стабільність при зберіганні біосенсора на основі КД, адсорбованої на силікаліті.**

Вимірювання проводили в 5мМ фосфатному буферному розчині, pH 7,4. Концентрація креатиніну – 1 мМ.

Висновки. В даній роботі було показано, що біосенсори на основі нового варіанту іммобілізації КД методом адсорбції на силікаліті характеризувались покращеними аналітичними характеристиками (межа визначення креатиніну, час аналізу, чутливість та ін.) порівняно з біосенсорами на основі традиційного методу іммобілізації ферменту. Крім того біосенсори на основі КД, адсорбованої на силікаліті, мали відтворювані відгуки протягом безперервної роботи (RSD = 2,6%) та мали активність більше 50% при зберіганні в продовж 1-го року.

Відповідно, запропонована методика іммобілізації є перспективною для розробки нових біосенсорів з покращеними аналітичними характеристиками.

Список літератури

1. *Teles F.R., Fonseca L.P*. Applications of polymers for biomolecule immobilization in electrochemical biosensors // Materials Science and Engineering. – 2008, V. 28. P. 1530–1543.

2. *Rajesh Adhikari.* Applications of Upconversion Nanoparticles in Nanomedicine. // J Nanomed Nanotechnol. – 2016, 7:4.

3. *Jiamin Wu, Xiang Li, Yueer Yan.* Protein adsorption onto nanozeolite: Effect of micropore openings. J. Wu et al. // Journal of Colloid and Interface Science 406. – 2013, P.130–138.

4. *Samir A. Bhakta, Elizabeth Evans.* Protein adsorption onto nanomaterials for the development of biosensors and analytical devices: A review.// Analytica Chimica Acta 872, – 2015, P. 7–25.

5. Bacakova L., Vandrovcova M., Jirka I. Biomedical applications of zeolites. // J Material Sci Eng, – 2016, 5:4. http://dx.doi.org/10.4172/2169-0022.C1.040

6. Soldatkin O., Shelyakina M., Arkhypova V. Nano- and microsized zeolites as a perspective material for potentiometric biosensors creation. // Nanoscale Research Letters. – 2015, 10:59

7. Pyeshkova V.N, Dudchenko O.Y, Soldatkin O.O, Kucherenko I.S. Application of silicalite for improvement of enzyme adsorption on the stainless steel electrodes.// Biopolym Cell. – 2014, 30:462–8.

Установи-учасники

1. Biofilm Research Laboratory, the Hebrew University-Hadassah, Jerusalem, Israel
2. Department of Biotechnology and Food Technologies, University of Ruse "Angel Kanchev", Branch Razgrad, Bulgaria
3. Department of Biotechnology, University "Prof. Dr. Assen Zlatarov", Burgas, Bulgaria
4. Department of Food Quality and Safety, Institute for Postharvest Technology and Food Sciences, Agricultural Research Organization (ARO), the Volcani Center, Rishon LeZion, Israel
5. Healthy Food by Zegin, DOO Zegin, Skopje Republic of Macedonia
6. Tallinn Technical University, Tallinn, Estonia
7. University of Kufa, College of Science, Department of Physics, Najaf, Iraq
8. Азербайджанский Государственный экономический университет, г. Баку, Республика Азербайджан
9. Белорусский государственный университет**,** г. Минск, Беларусь
10. Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАНУ, Відділення фізико-хімії горючих копалин, м. Львів, Україна
11. ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАНУ», г. Киев, Украина
12. Днепровский государственный технический университет, г. Каменское, Украина
13. Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна
14. ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМНУ», м. Київ, Україна
15. ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАНУ», м. Київ, Україна
16. ДУ «Харківський обласний лабораторний Центр МОЗ України», м. Харків, Україна
17. Інститут агроекології і природокористування НААН, м. Київ, Україна
18. Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна
19. Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ, м. Київ, Україна
20. Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ, м. Київ, Україна
21. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАНУ, Київ, Україна
22. Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАНУ, м. Київ, Україна
23. Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, м. Київ, Україна
24. Інститут молекулярної біології і генетики НАНУ, м. Київ, Україна
25. Інститут фізіології рослин і генетики НАНУ, м. Київ, Україна
26. Киевский национальный университет технологий и дизайна, г. Киев, Украина

27. Київський національний торговельно-економічний університет, м. Київ, Україна
28. Київський палац дітей та юнацтва, м. Київ, Україна
29. Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна
30. Національний авіаційний університет, м. Київ, Україна
31. Національний природний парк «Гуцульщина», м. Косів, Україна
32. Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут ім. Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна
33. Національний університет «Львівська політехніка», м. Львів, Україна
34. Національний університет біоресурсів та природокористування України, м. Київ, Україна
35. Національний університет водного господарства та природокористування, м. Рівне, Україна
36. Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна
37. Нікітський ботанічний сад – Національний науковий центр», м. Ялта, Крим
38. Технический университет Молдовы, г. Кишинев, Молдова
39. ТОВ «Енвітек», м. Київ, Україна
40. УкрНДІЛГА ім. Г.М. Висоцького, м. Харків, Україна
41. Харківський національний технічний університет сільського господарства ім. Петра Василенка, м. Харків, Україна
42. Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

І МІЖНАРОДНА НАУКОВО-ПРАКТИЧНА ІНТЕРНЕТ-КОНФЕРЕНЦІЯ
«БІОТЕХНОЛОГІЯ: ДОСВІД, ТРАДИЦІЇ ТА ІННОВАЦІЇ»

Наукове видання

«БІОТЕХНОЛОГІЯ: ДОСВІД, ТРАДИЦІЇ ТА ІННОВАЦІЇ»

Збірник нвукових праць

ЗА МАТЕРІАЛАМИ І МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ ІНТЕРНЕТ-КОНФЕРЕНЦІЇ

(14-15 грудня 2016 р.)

Ковп‘ютерна верстка Ю.М. Пенчук