

ВЕСТНИК БИОТЕХНОЛОГИИ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ ИМЕНИ Ю.А. ОВЧИННИКОВА

Научно-практический журнал

Основан в 2005 году

Главный редактор

Р.Г. Василев

Редакционная коллегия

В.С. Воробьев, Т.Н. Гаева, С.И. Матаев, О.Я. Мезенова

Редакционный совет

В.А. Быков (Москва), В.Г. Дебабов (Москва), С.Х. Дегтярев (Новосибирск),
В.Т. Иванов (Москва), Л.В. Калакуцкий (Пушино), М.П. Кирпичников (Москва),
А.И. Мирошников (Москва), Т.В. Овчинникова (Москва), А.Н. Панин (Москва),
В.О. Попов (Москва), Н. Раевский (Берлин, Германия),
А.Н. Решетилев (Пушино), К.Г. Скрябин (Москва), Р.М. Хаитов (Москва),
В.И. Швец (Москва), Н.К. Янковский (Москва)

Журнал зарегистрирован в Росохранкультуре
Рег. ПИ № ФС77-19745 от 11 апреля 2005 г.

Зав. редакцией О.В. Воробьева

Адрес: 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33

Тел.: +7 (495) 648-09-13

E-mail: obr@biorosinfo.ru, ptashka095@rambler.ru

Учредитель и издатель:

АНО «Информационно-аналитический центр
медико-социальных проблем»

Адрес: 127581 Москва, Керамический проезд, 53, кор. 1

Тел.: +7 (495) 648-09-13

E-mail: raifvasilov@mail.ru

Издается при поддержке

Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова

ISSN 1996-4741

© Информационно-аналитический центр
медико-социальных проблем, 2014.

СОДЕРЖАНИЕ

Колонка главного редактора К читателям. <i>Р.Г. Василев</i>	4
Оригинальные статьи	
Разработка биоэлектрохимической системы для получения электроэнергии из отходов. <i>С.М. Абрамов, Э.Р. Садраддинова, А.И. Шестаков, Е.Н. Быконя, И.Н. Серезкин, А.И. Нетрусов</i>	5
Обоснование условий получения функциональных биомодифицированных коллагеновых субстанций. <i>И.А. Глотова, Н.А. Галочкина</i>	12
Биотехнология гейнеров для спортивного питания на основе активных пептидов рыбной чешуи. <i>О.Я. Мезенова, Н.Ю. Мезенова, Л.С. Байдалинова, Йорг-Томас Мерсель, А. Хелинг</i>	20
Анод микробного биотопливного элемента на основе терморасширенного графита. <i>А.Е. Китова, А.С. Самойлова, А.В. Мачулин, Л.Д. Асулян, В.В. Колесов, Р.Г. Василев, А.Н. Решетилев</i>	25
Распределение, свойства и перспективы использования азотистых и углеводных соединений различных тканей дальневосточных асцидий. <i>Т.Н. Пивненко, П.А. Задорожный, В.А. Зарубкина, Л.А. Иванушко</i>	29
Скрининг сортов пшеницы и ячменя на присутствие ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням. <i>Н.Е. Павловская, И.Г. Лоскутов, А.В. Пикунова, А.Ю. Гаврилова</i>	38
Влияние ультразвука на рост и метаболизм биологически активных веществ в штаммах <i>Panax ginseng</i> <i>С.А. Мей</i> и <i>Panax quinquefolius L. (Araliaceae)</i> . <i>Л.И. Слепян, И.Е. Каухова, Е.С. Солодникова, И.А. Красовицкая</i>	46
Обзоры	
Разработка технологической схемы комбинированного тепло- и электроснабжения тепличного хозяйства паровым котлом и электрохимической энергоустановкой на базе твердооксидных топливных элементов, работающих на биогазе из растительных отходов. <i>Н.В. Коровин, Г.Н. Волощенко, А.В. Борголов</i>	52
Технология вермифилтрации — эффективный метод очистки бытовых и промышленных сточных вод. Обзор. <i>И.Н. Титов, Фарзах Фаваз Салим Фатах, Н.П. Ларионов, В.М. Кан</i>	58
Страницы истории	
Юбилейные и знаменательные даты 2014 года.....	71
Хроника	
События 2014 года	76
Информация	
Предстоящие мероприятия 2014 года	77
Правила для авторов	78

CONTENTS

Column of the editor-in-chief

To readers. *R.G. Vasilov* 4

Original articles

Development of the bioelectrochemical system for obtaining electrical energy from waste.

*S.M. Abramov, E.R. Sadraddinova, A.I. Shestakov, E.N. Bykonya,
I.N. Serezhkin, A.I. Netrusov* 5

Justification of the conditions for obtaining functional biomodified collagen substances.

I.A. Glotova, N.A. Galochkina 12

Biotechnological production of gainers for sports nutrition, based on active peptides of fish scales.

O.Y. Mezenova, N.Y. Mezenova, L.S. Baydalinova, Joerg Thomas Moersel, A. Hoeling 20

Microbial biofuel cell anode based on thermally expanded graphite.

*A.E. Kitova, A.S. Samoylova, A.V. Machulin, L.D. Asulyan, V.V. Kolesov,
R.G. Vasilov, A.N. Reshetilov* 25

Distribution, properties and prospects for the use of nitrogenous and carbohydrate compounds of various tissues of the Far Eastern sea squirts.

T.N. Pivnenko, P.A. Zadorozhnyy, V.A. Zarubkina, L.A. Ivanushko 29

Screening of wheat and barley for the presence of DNA markers of disease resistance genes.

N.E. Pavlovskaya, I.G. Loskutov, A.V. Pikunova, A.Y. Gavrilova 38

Ultrasound effects on growth and metabolism of active compounds in strains of *Panax ginseng* C.A. Mey. and *Panax quinquefolius* L. (Araliaceae).

L.I. Slepyan, I.E. Kaukhova, E.S. Solodnikova, I.A. Krasovitskaya 46

Reviews

Development of technological schemes of the combined heat and power steam boiler greenhouse agriculture and electrochemical power plant based on solid oxide fuel cells operating on biogas from plant waste.

N.V. Korovin, G.N. Voloschenko, A.V. Borgolov 52

Vermifiltration technology – an effective method of treatment of domestic and industrial wastewater. Overview.

I.N. Titov, Farzagh Fawaz Salim Fatah, N.P. Larionov, V.M. Kan 58

Pages of history

Anniversary and significant dates 2014 71

The chronicle

Events in 2014 76

The information

Forthcoming actions 2014 77

Rules for authors 78

К читателям

Статьи первого номера журнала за 2014 год в достаточной мере отражают основные приоритеты современной отечественной биотехнологии.

В подборке работ из НИЦ «Курчатовский институт» ставится цель продолжения создания оптимальных биоэнергетических моделей, которые могли бы явиться предметом инновационной и инвестиционной поддержки в практическом плане. Так, например, в исследовании С.М. Абрамова с соавторами ведется разработка биоэлектрохимической системы для производства электроэнергии из отходов с использованием широкого спектра отобранного сообщества микроорганизмов. Коллектив исследователей под руководством А.Н. Решетилова изучает возможности получения микробных биотопливных элементов на основе терморасширенного графита. Группа авторов (Коровин Н.В., Волощенко Г.Н., Борголов А.В.) исследует технологические схемы биоэнергетической установки на базе твердооксидных топливных элементов, работающих на биогазе из растительных отходов: сообщается о промежуточных результатах их целенаправленных поисков в данном направлении.

Часть исследователей представлена специалистами по пищевой и морской биотехнологии. Н.А. Глотова, Н.А. Галочкина (Воронежский государственный аграрный университет) разработали схему получения биомодифицированных коллагеновых субстанций из побочных продуктов колбасного производства. О.Я. Мезенова с коллегами (Калининградский государственный технический университет) предложили биотехнологический метод изучения состава гейнеров для спортивного питания из активных пептидов рыбьей чешуи. Т.Н. Пивненко с соавторами (Владивосток) изучили содержание азотистых компонентов, белков и углеводов дальневосточных асцидий, имея в виду дальнейшее применение результатов на практике.

Важное исследование в сфере сельскохозяйственной биотехнологии проведено авторами из Орла и Санкт-Петербурга (Павловская Н.Е. и др.), в котором они использовали как экспериментальный материал Вавиловскую коллекцию мировых растений ВИР с целью осуществить скрининг сортов ячменя на присутствие ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням (изучались также сорта пшеницы из других источников).

Сотрудники Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академии (Слепян Л.И. и др.) изучали влияние ультразвука на рост и продукцию водорастворимых экстрактивных веществ и полисахаридов в штаммах женьшеня обыкновенного и панакса пятилистного.

В обзоре И.Н. Титова (г. Владимир) представлен материал по вермифильтрации как эффективного метода очистки бытовых и промышленных сточных вод.

По установившейся традиции в первом номере приводятся знаменательные даты на текущий год, отражающие наиболее интересные исторические события в области биотехнологии и физико-химической биологии.

**Главный редактор,
президент Общества биотехнологов России,
профессор Р.Г. ВАСИЛОВ**

РАЗРАБОТКА БИОЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОЭНЕРГИИ ИЗ ОТХОДОВ

С.М. АБРАМОВ¹, Э.Р. САДРАДДИНОВА¹, А.И. ШЕСТАКОВ^{1,2*},
Е.Н. БЫКОНЯ¹, И.Н. СЕРЕЖКИН¹, А.И. НЕТРУСОВ¹

¹ ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
биологический факультет;

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

В работе приведены результаты выделения из природных биотопов электрохимически активных микроорганизмов, способных восстанавливать нерастворимые соединения трехвалентного железа и генерировать отрицательный окислительно-восстановительный потенциал на аноде микробного топливного элемента. Для культивирования отобранных микроорганизмов была разработана биоэлектрохимическая система, функционирующая в режиме микробного топливного элемента. Изучен таксономический состав отобранного сообщества микроорганизмов и предложен механизм переноса электронов от клеток к нерастворимому терминальному акцептору.

Ключевые слова: биоэнергетика, микробные биотопливные элементы.

Введение

Выживание всех видов микроорганизмов (автотрофов или гетеротрофов, свободноживущих или облигатных паразитов) во многом зависит от решения проблемы получения энергии. Важным элементом метаболизма бактерий является работа электронтранспортных цепей (ЭТЦ) в клетках. Большинство современных представлений об ЭТЦ было получено благодаря изучению процессов дыхания и фотосинтеза у эукариотических и прокариотических микроорганизмов. Сегодня хорошо известны устройство и функции различных структур, вовлеченных в процессы транспорта электронов (среди них: фотосинтетический центр, цитохромоксидаза, НАДН-дегидрогеназа и др.) [7].

В последние десятилетия для многих видов микроорганизмов была показана возможность дыхания с использованием в качестве терминального акцептора электронов нерастворимых химических соединений, расположенных вне клетки. Для этого вида дыхания, как выяснилось позже, большое значение имеют специали-

зированные механизмы, благодаря которым электроны транспортируются к нерастворимому терминальному акцептору [6].

Микроорганизмы, осуществляющие этот вид дыхания, представляют интерес для прикладной науки. Они могут быть использованы для создания технологии микробного топливного элемента (МТЭ). В МТЭ микроорганизмы генерируют электрическую энергию, потребляя органическое вещество (в том числе органические отходы) [8]. Электроны, высвобожденные при гидролизе органического субстрата, передаются на внутриклеточные переносчики, которые затем транспортируют к дыхательной ЭТЦ. Если роль терминального акцептора электронов в дыхательной цепи займет анодный электрод топливного элемента, расположенный снаружи клетки, то микробное разложение органического материала будет сопряжено с образованием электрической энергии. Перенос электрона на анодный электрод происходит вследствие того, что в системе (в анодной камере МТЭ) отсутствует сколько-нибудь существенное количество других акцепторов электронов с высоким окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП; O_2 , NO_3^-) [9, 14].

Интерес к развитию этой технологии вызван перспективами использования МТЭ в очистке сточных вод и переработке различных типов отходов — от сравнительно безопасных пищевых до токсичных и даже радиоактивных [9].

© 2014 г. Абрамов С.М., Садрадинова Э.Р., Шестаков А.И., Быконя Е.Н., Сережкин И.Н., Нетрусов А.И.

* Автор для переписки:

Шестаков А.И.

НИЦ «Курчатовский институт», НТК биоэнергетики,

123182 Москва, пл. Академика Курчатова, 1

E-mail: b.ok.off@mail.ru

Материалы и методы

Объекты исследования. Сообщества микроорганизмов выделяли из различных биотопов, в которых визуально наблюдали процесс разложения органического вещества. Пробы отбирали из ниш, характеризующихся различными условиями среды (температура, pH, минерализация, ОВП и др.). Отбор проб проводили в герметичные пластиковые флаконы.

Также в работе использовали культуру микроорганизмов *Shewanella oneidensis* MR-1 из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ).

Отбор и культивирование сообществ железовосстанавливающих микроорганизмов проводили на среде следующего состава (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,45; NaCl – 0,90; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,18; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,10; NH_4Cl – 0,50; KH_2PO_4 – 1,50; K_2HPO_4 – 2,19; дрожжевой экстракт – 0,5; пептон – 0,5; микроэлементы SL-10 – 1 мл. Состав раствора микроэлементов SL-10 (г/л): $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ – 1,5; ZnCl_2 – 70,0; $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ – 100,0; H_3BO_3 – 6,0; $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 19,0; $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 2,0; $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 24,0; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 36,0; Na_2WO_4 – 15,0; $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ – 15,0.

Перед внесением инокулята в качестве субстрата для роста добавляли 10 мМ раствор ацетата натрия или 50 мМ раствор глюкозы, а в качестве акцептора электронов 50 мМ раствор трехвалентного железа – Fe_2O_3 или $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Растворы ацетата натрия и железа готовили и стерилизовали отдельно.

Культуру микроорганизмов *Shewanella oneidensis* MR-1 культивировали на среде следующего состава (г/л): гидролизат казеина – 17; пептон – 3; K_2HPO_4 – 2,5; NaCl – 5; глюкоза – 2,5; K_2HPO_4 – 2,5.

Значение pH во всех средах доводили до значения 7,0–7,3, раствором 2 М NaOH или раствором 1 М HCl. Для культивирования применяли модифицированную технику Хангейта [1, 2]. Культивирование вели при температуре 25 °С.

Морфологические исследования проводили с помощью сканирующей электронной микроскопии на микроскопах JEOL – JSM-6380LA (Япония) и Camscan S2 (Великобритания). Рентгеноспектральный микроанализ проводили на микроскопе Zeiss LEO Supra 50 VP, оснащенный безазотным энергодисперсионным спектрометром X-MAX 80 под управлением программного обеспечения INCA (Oxford Instruments).

Таксономический состав отобранных микробных сообществ изучали методом денатурирующего

градиентного геля электрофореза (ДГГЭ) с последующим секвенированием. ДНК выделяли из культуры клеток по стандартной методике [10]. ПЦР амплификация была проведена с использованием системы универсальных праймеров 515 Univ F (5'-GTGBCAGCMGCCGCGGTAA-3') and 907 Bact R (5'-CCGTCAATTTCMTTTGAGTTT-3'). Полученные ампликоны были разделены в денатурирующем полиакриламидном геле (8% по объему) в градиенте денатурирующего агента (мочевина; от 30 до 70%).

Качественную оценку процесса восстановления железа проводили визуально.

Результаты и обсуждение

Скрининг микроорганизмов. Из различных природных и антропогенных биотопов были отобраны 23 образца материала, из которых при первичном скрининге отобрано 13 микробных сообществ, способных восстанавливать соединения железа при последовательных пересевах. Данные сообщества были получены из следующих образцов: 1 – ил обводненного участка, образованного минеральным источником (окрестности города Кисловодска, Ставропольский край, Россия); 2 – вода штольневого ручья, впадающего в реку Холодная на севере озера Байкал (Республика Бурятия, Россия); 3 – микробное обрастание основания каптажа минеральной воды (окрестности города Кисловодска, Ставропольский край, Россия); 4 – донный ил (озеро Белое в муниципальном районе Косино-Ухтомский, город Москва, Россия); 5 – донный ил (глубина 1 м, озеро Тамбукан в 9 км юго-восточнее Пятигорска на границе Предгорного района Ставропольского края и Зольского района Кабардино-Балкарии, Россия); 6 – вода из горячих минеральных источников на севере озера Байкала, расположенных между мысом Хакусы и мысом Хаманкит (Республика Бурятия, Россия); 7 – органический материал из каптажа термального гейзера (город Бад-Эмс, земля Рейнланд-Пфальц, Германия); 8 – вода озера в районе Биладжары (Азербайджан); 9 – органическое вещество из минеральных источников на горе Машук (окрестности города Пятигорска, Ставропольский край, Россия); 10 – метаногенный ил очистных сооружений (город Москва, Россия); 11 – активный ил Курьяновских очистных сооружений (город Москва, Россия); 12 – прибрежный ил реки Казанка (город Казань, Россия); 13 – прибрежный ил водоема (город Электросталь, Московская область, Россия).

Для всех сообществ, отобранных после первичного скрининга, визуально была отмечена стратегия роста, при

которой мелкодисперсная минеральная фаза (соединения трехвалентного железа) была включена в структуру биопленок. Намного менее эффективно происходило обрастание ровных поверхностей крупных кристаллических частиц оксидов железа, лишенных структурных дефектов. В качестве акцептора электронов был также использован Fe_2O_3 , размер частиц которого не превышал 100 нм. В этом случае были отмечены примеры «инкрустации» поверхности некоторых клеток наноразмерными частицами оксида железа. Сходная стратегия была отмечена и для микроорганизма *S. oneidensis* MR-1, который использовали в качестве тестового микроорганизма. «Инкрустация» клеток электрохимически активных микроорганизмов наноразмерными частицами минеральных соединений была продемонстрирована и ранее [3]. Такая стратегия характерна для микроорганизмов, осуществляющих прямой транспорт электронов от терминальной редуказы мембранной ЭТЦ клетки, расположенной на внешней мембране к акцептору электронов. Хотя для *S. oneidensis* MR-1 была показана и возможность медиаторного транспорта электронов с помощью флавинов [5, 14]. Следует также отметить, что интенсивность восстановления $\text{Fe}(\text{OH})_3$ была выше, чем интенсивность восстановления Fe_2O_3 . Причина этого явления может заключаться в степени кристалличности указанных веществ. Гидроксид железа имеет более аморфную структуру, а, значит, и большее количество точек, в которых может быть инициирован и интенсифицирован процесс восстановления этого соединения.

На рисунках 1 и 2, показаны микробные структуры, которые были сформированы в процессе культивирования сообщества № 6 с мелкодисперсной минеральной фазой в качестве акцептора электронов.

Был проведен рентгеновский анализ поверхности сформированных структур (рис. 2), который показал, что в их состав включены соединения железа (табл. 1). Микробное сообщество № 6 покрывало поверхность Fe_2O_3 плотной многоуровневой биопленкой. В некоторых частях биопленки можно было различить длинные филаменты (см. рис. 2). Диаметр их составлял порядка 0,2 мкм, а длина — более 2–3 мкм. Вполне вероятно, что они выполняли структурную роль, помогая отдельной клетке прочнее укрепиться в биопленке. Однако из литературных данных известно, что некоторые электрохимически активные микроорганизмы, представители рода *Geobacter*, синтезируют электропроводные филаменты (пили), с помощью которых они передают электроны на минеральные акцепторы или на поверхность анодного электрода в микробном топливном элементе [11].

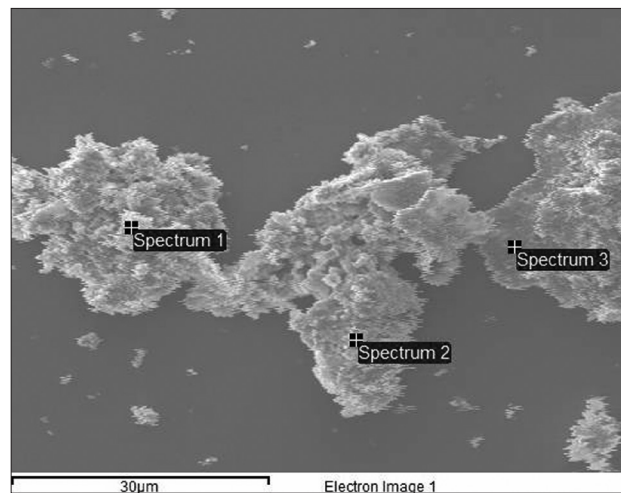


Рис. 1. Электронно-микроскопическая фотография частиц железа, покрытых микробными биопленками (получена с помощью микроскопа Zeiss LEO Supra 50 VP). Точками обозначены места, в которых проводили рентгеновский анализ. Результаты анализа приведены в таблице 2

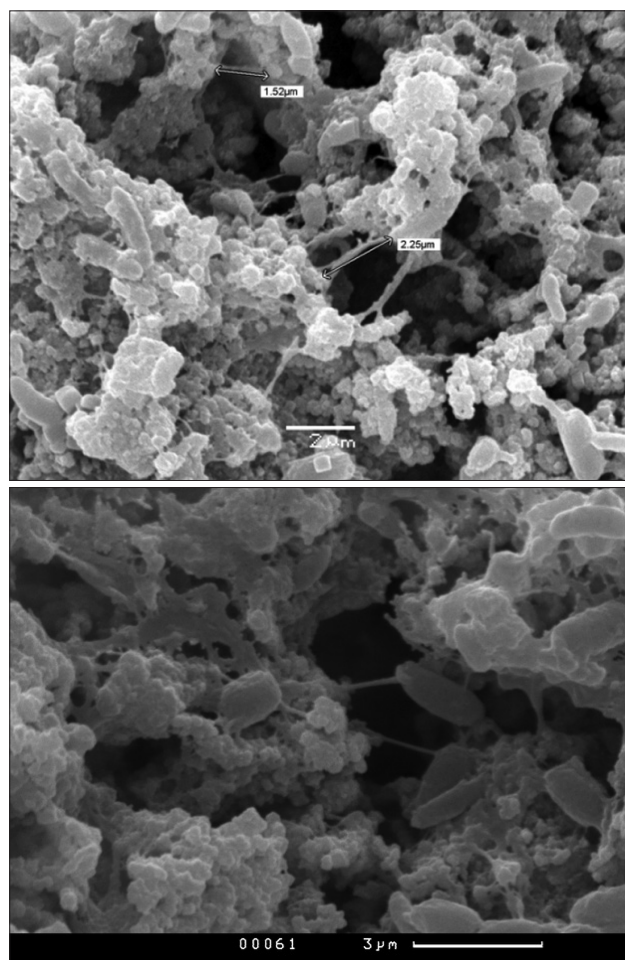


Рис. 2. Электронно-микроскопические фотографии частиц Fe_2O_3 , покрытых биопленкой микробного сообщества № 6 (получена с помощью сканирующего электронного микроскопа Camscan S2)

Таблица 1
**Элементный состав трех точек поверхности частиц
 железа, покрытых биопленкой сообщества № 6
 (% по весу)**

Элемент	C	O	Na	Si	S	Fe	Общее количество, %
Точка 1	34,95	17,24	0,72	1,93	7,38	12,46	100,00
Точка 2	22,36	27,79	–	–	4,36	37,28	100,00
Точка 3	13,63	28,50	0,64	0,63	1,79	50,18	100,00

Для большинства остальных отобранных микробных сообществ также была показана способность образовывать биопленки на поверхности частиц железа.

После продолжительного культивирования отобранных сообществ на среде с окисленным железом был осуществлен отбор пяти наиболее активных образцов для дальнейшего исследования.

Изучение электрохимических характеристик отобранных микроорганизмов. Для изучения электрохимических характеристик отобранных микроорганизмов была разработана серия анаэробных биореакторов с интегрированной трехэлектродной электрохимической ячейкой (рис. 3).

В качестве рабочего электрода трехэлектродной ячейки (анода МТЭ) использовали графитовую пластину площадью 350 мм², закрепленную на графитовом стержне с помощью электропроводного клея. Биореактор можно эксплуатировать не только в режиме модифицированной трехэлектродной электрохимической ячейки, но и в режиме полноценного низкотемпературного топливного элемента. Для этого предусмотрена возможность подключения катодной камеры, в которой в качестве катодного материала использовали активированный уголь (тип А). Катод смачиваемого типа.

В качестве вспомогательного электрода и электрода сравнения использовали стеклоуглеродный стержень и Ag/AgCl электрод, соответственно. В режиме МТЭ вспомогательный электрод меняли на рН-электрод. Измерение разности потенциалов в разомкнутой цепи на рабочих электродах осуществляли относительно вспомогательного электрода Ag/AgCl типа. В работе использовали электрод сравнения ЭВЛ – 1 М 3.1 производства ОАО «Гомельский ЗИП». В качестве рН

электрода использовали электрод рН-метрический ЭС-71-11 производства ОАО «Гомельский ЗИП». Перед постановкой эксперимента измерительные электроды были подготовлены к работе и откалиброваны в соответствии с прилагаемой инструкцией. Измерение разности потенциалов разомкнутой цепи на электродах и рН культуральной жидкости проводили на приборе иономер лабораторный Экотест 120, укомплектованном автоматическим коммутатором с 8 позициями КМ-8 производства ОАО «Гомельский ЗИП». После внесения инокулята проводили замер электрохимических характеристик «нулевой точки» для каждой культуры.



Рис. 3. Разработанный лабораторный прототип МТЭ для скрининга и культивирования сообществ и чистых культур электрохимически активных микроорганизмов. 1 – анодная камера; 2 – катодная камера; 3 – рН электрод; 4 – электрод сравнения

Культивирование отобранных пяти сообществ в разработанной биоэлектрохимической системе позволило определить способность микроорганизмов генерировать отрицательный анодный потенциал при использовании органического субстрата. Оценить электрохимические параметры микробных сообществ возможно по величине и динамике изменения анодного потенциала, поскольку его величина характеризует эффективность окислитель-

но-восстановительных реакций. Величина ОВП на аноде была тем отрицательнее, чем более интенсивнее проходили на нем окислительно-восстановительные реакции.

Результаты электрохимического скрининга позволили отобрать два наиболее перспективных микробных сообщества (№ 1 и 5), выделенных из ила обводненного участка, образованного минеральным источником в окрестностях города Кисловодска и из донного ила озера Тамбукан, расположенного юго-восточнее города Пятигорска (рис. 4 и 5).

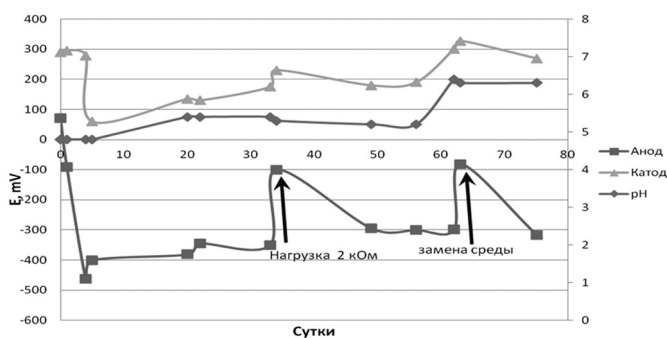


Рис. 4. Динамика изменения значений анодного и катодного потенциалов и pH в лабораторном прототипе МТЭ при культивировании сообщества № 5 при разложении органического субстрата

При культивировании микробного сообщества № 5, выделенного из ила озера «Тамбукан», было получено максимальное значение анодного потенциала разомкнутой цепи, которое составило -462 мВ.

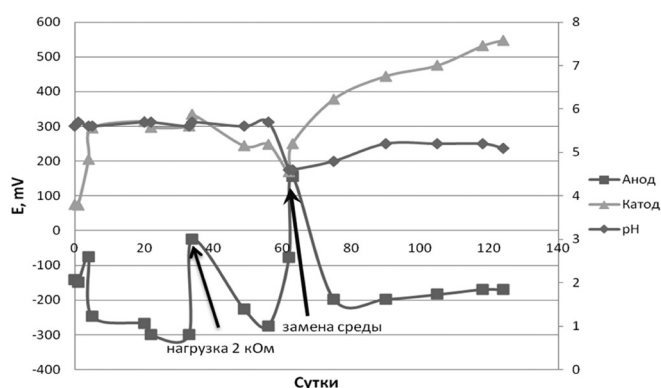


Рис. 5. Динамика изменения значений анодного и катодного потенциалов и pH в лабораторном прототипе МТЭ при культивировании микробного сообщества № 1 при разложении органического субстрата

Максимальное значение анодного потенциала при культивировании микробного сообщества № 1 составило -300,7 мВ.

Результаты электрохимического скрининга позволили отобрать два наиболее перспективных микробных сообщества (№ 1 и 5), для которых можно было наблюдать положительную динамику интенсификации окислительно-восстановительных реакций на анодном электроде, как в режиме разомкнутой цепи, так и под нагрузкой 2 кОм.

На некоторых участках рабочего электрода можно было наблюдать отдельные клетки. Некоторые из них также формировали филаментоподобные структуры, соединяющие клетки между собой (рис. 6).

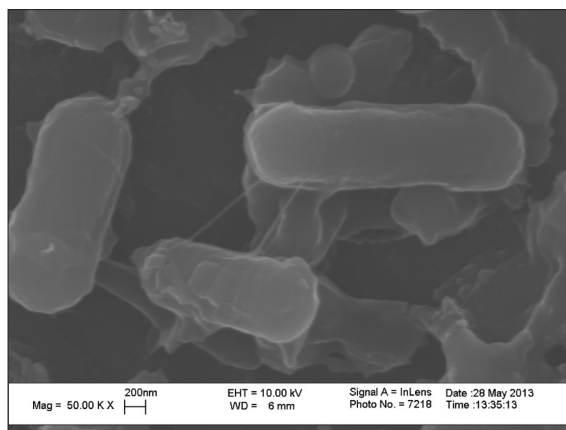


Рис. 6. Электронно-микроскопическая фотография клеток микробного сообщества № 5, формирующих филаментоподобные структуры на поверхности рабочего электрода (получена с помощью микроскопа JEOL – JSM-6380LA)

Высокая электрохимическая активность культур микроорганизмов, выделенных из региона Кавказских Минеральных Вод, обоснована тем фактом, что выходы минеральных источников обогащены различными минеральными соединениями, в том числе соединениями железа. Таким образом, в этих экологических нишах вполне закономерно присутствие микроорганизмов, использующих эти соединения для своего выживания.

Исследование таксономического состава сообщества. Микробное сообщество № 5 было изучено методом денатурирующего градиентного гель электрофореза. Результаты анализа показали, что преобладающими в сообществе микроорганизмами были виды, принадлежащие роду *Bacillus*, виды *Patulibacter americanus* и *Desulfovibrio africanus* штамм DSM 2603. Присутствие *Desulfovibrio africanus* в микробном сообществе № 5 позволило предположить, что наиболее активное восстановление Fe_2O_3 и $Fe(OH)_3$ могло происходить за счет реакции с сероводородом, то есть, в какой-то степени под

влиянием абиотического фактора. Сульфатредуцирующие микроорганизмы образуют сероводород, который является активным соединением, способным вступать в различные окислительно-восстановительные реакции. Например, сероводород может вступать в реакцию с оксидом железа (III) и водородом, образуя сульфид железа [4]. Водород всегда присутствует в среде культивирования, поскольку является важным интермедиатом, и имеет принципиальное значение для выживания синтрофных сообществ микроорганизмов [12].

Для того чтобы оценить вклад сероводорода в процесс восстановления железа микробными сообществами № 1 и 5, в среду культивирования добавляли молибдат натрия, который в растворенном виде ингиби-

ровал рост сульфатредуцирующих бактерий, подавляя скорость сульфатредукции за счет образования комплексов Mo(V)-S. Микробные сообщества, растущие на средах, содержащих в своем составе молибдат натрия, значительно замедляли скорость восстановления оксида трехвалентного железа (рис. 7).

Результаты эксперимента дали возможность предположить, что восстановление Fe_2O_3 микробными сообществами № 1 и 5 частично обусловлено образованием сероводорода. При этом сероводород может локально образовываться сульфатредуцирующими компонентами микробных биопленок и мгновенно окисляться на поверхности частиц оксида железа (III), восстанавливая его тем самым до сульфида железа.

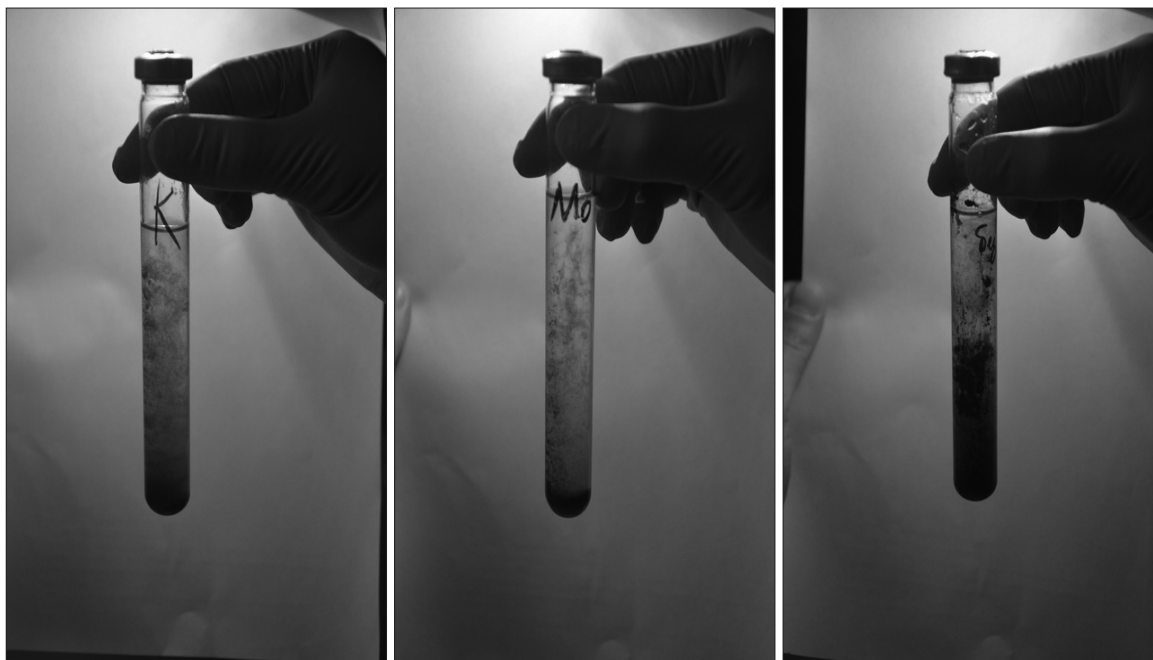


Рис. 7. Микробное сообщество № 1, инокулированное в полужидкую агаризованную среду культивирования. Контрольная пробирка (слева), опытная пробирка с молибдатом натрия (в центре), опытная пробирка без молибдата натрия (справа)

Заключение

В результате работы было выделено два активных микробных сообщества, способные осуществлять процесс микробного восстановления минеральных соединений. Было показано, что микробные сообщества формируют скопления, в состав которых входят частицы оксида Fe (III). При этом центрами инициации таких скоплений могут быть дефекты поверхности минеральной фазы. Это свидетельствует в пользу того, что минеральная фаза «способна» модулировать микробную активность, интенсифицируя ее именно в таких местах. Эти центры инициации, несомненно, обладают большей площадью поверхности и, по-видимому, меньшей кристаллической структурой. Таким образом, микробной клетке намного удобнее связываться с акцептором электронов именно в такой точке.

Выражаем благодарность за помощь в проведении исследований Центру коллективного пользования МГУ и лично к.б.н. Г.Н. Давидовичу, руководителю лаборатории электронной микроскопии МГУ имени М.В. Ломоносова.

Литература

1. Митрофанова Т.И. Свойства новых штаммов термофильных анаэробных бактерий. Дисс... на соискание уч. степ. канд. биол. наук. – МГУ, 1995. – 115 с.
2. Садраддинова Э.Р., Шестаков А.И., Абрамов С.М., Кошкарлова Л.А., Митрофанова Т.И., Василов Р.Г., Нетрусов А.И. Скрининг микробных сообществ – продуцентов биоводорода // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2013. – Т. 9. – № 2. – С. 43–52.
3. Daulton T.L., Little B.J., Jones-Meehan J., Blom D.A., Allard L.F. Microbial reduction of chromium from the hexavalent to divalent state // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2007. – Vol. 71. – P. 556–565.
4. Enning D., Garrelfs J. Corrosion of iron by sulfate-reducing bacteria: new views of an old problem // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2014. – Vol. 80(4). – P. 1226–1236.
5. Fredrickson J.K., Romine M.F., Beliaev A.S., Auchtung J.M., Driscoll M.E., et al. Towards environmental systems biology of *Shewanella* // *Microbiology*. – 2008. – Vol. 6. – P. 592–603.
6. Fredrickson J.K., Zachara J.M. Electron transfer at the microbe-mineral interface: a grand challenge in biogeochemistry // *Geobiology*. – 2008. – Vol. 6. – P. 245–253.
7. Hernandez M., Newman D. Extracellular electron transfer // *Cell Mol. Life Sci.* – 2001. – Vol. 58. – P. 1562–1571.
8. Lefebvre O., Uzabiaga A., Chang I.S., Kim B-H., Ng H.Y. Microbial fuel cells for energy self-sufficient domestic wastewater treatment – a review and discussion from energetic consideration // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 89. – P. 259–270.
9. Logan B.E. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells // *Microbiology*. – 2009. – Vol. 7. – P. 375–381.
10. Mori M.I., Herrick J.B., Silva M.C., Ghiorse W.C., Madsen E.L. Quantitative cell lysis of indigenous microorganisms and rapid extraction of microbial DNA from sediment // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1994. – Vol. 60. – P. 1572–1580.
11. Sanchez C. Metal-like conductivity in microbial nanowires // *Nature Reviews Microbiology*. – 2011. – Vol. 9. – P. 700.
12. Stams A.J.M., Plugge C.M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2009. – Vol. 7. – P. 568–577.
13. Stookey L.L. Ferrozine – a new spectrophotometric reagent for iron // *Anal. Chem.* – 1970. – Vol. 42. – P. 779–781.
14. Watanabe K., Manefield M., Lee M., Kouzuma A. Electron shuttles in biotechnology // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2009. – Vol. 20. – P. 633–641.

DEVELOPMENT OF THE BIOELECTROCHEMICAL SYSTEM FOR OBTAINING ELECTRICAL ENERGY FROM WASTE

S.M. ABRAMOV¹, E.R. SADRADDINOVA¹, A.I. SHESTAKOV^{1,2}, E.N. BYKONYA¹,
I.N. SEREZHKIN¹, A.I. NETRUSOV¹

¹ *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology;*

² *National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow*

The work presents the results of screening and selection electrochemically active microorganisms. These microorganisms are able to restore insoluble ferric substances and generate negative redox potential on the anode of a microbial fuel cell. For the cultivation of selected microorganisms a bioelectrochemical system was developed, which possible to use as microbial fuel cell mode. Studied taxonomic composition of selected microorganisms, and possible mechanism of electron transfer from the cells to an insoluble terminal acceptor.

Keywords: bioenergetics, microbial fuel cells.

ОБОСНОВАНИЕ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОМОДИФИЦИРОВАННЫХ КОЛЛАГЕНОВЫХ СУБСТАНЦИЙ

И.А. ГЛотова, Н.А. ГАЛОЧКИНА*

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»

Представлена видоизмененная технологическая схема получения биомодифицированных коллагеновых субстанций из жилок, сухожилий, фасций, выделяемых на стадии жиловки говядины в колбасном производстве. Коллагеновые субстанции могут быть получены в двух технологических формах: гелеобразной и порошкообразной. Молекулярно-массовое распределение полипептидных фракций в составе коллагеновой субстанции характеризуется следующим соотношением: 62 кДа – 13%, свыше 80 до 100 кДа – 50%, свыше 100 кДа – 37%, в том числе свыше 120 кДа – 24%. Это обеспечивает свойства гидроколлоидов в пищевых системах, в том числе молочных, и сорбционную емкость в отношении органического препарата селена, в качестве которого использован диметилдипиразолселенид.

Ключевые слова: коллаген, биомодификация, пищевая биотехнология, полипептидные фракции, гидроколлоиды, антиоксидантная активность, диметилдипиразолселенид.

Введение

Применение в традиционных технологиях пищевых продуктов сырья, имеющего в качестве преобладающего компонента структуры соединительную ткань, существенно лимитировано в связи с низкими функциональными и органолептическими свойствами ее нативных компонентов.

Перспективным подходом для расширения возможностей и областей применения соединительных тканей сельскохозяйственных животных в пищевых, в том числе барьерных, технологиях является целенаправленная модификация их структурных компонентов на основе физико-химических или биотехнологических воздействий, а также их комбинаций. Основу биотехнологических воздействий составляют методы инженерной энзимологии с использованием ферментных препаратов общепротеолитического (протосубтилин [9, 23], савиназа [21], нейтраза 1,5 MG [16]) и коллагенолитического (коллагеназа из гепатопанкреаса камчатского краба) действия [10].

Важную роль при этом имеют такие свойства коллагена, как специфика аминокислотного состава, уникальная пространственная структура молекул, обеспечивающая стойкость коллагеновых субстанций при выделении из тканей и отделении от других компонентов, способность к восстановлению из растворов с формированием различных надмолекулярных структур, свойства пищевого волокна, что обуславливает весьма широкие прикладные возможности модифицированных коллагеновых продуктов [3, 10, 17]. С учетом микроструктурных характеристик и физико-химических свойств коллагенсодержащих сырьевых источников продуктами переработки могут быть как пищевые добавки, пленки, покрытия, съедобные колбасные оболочки, физиологически активные ингредиенты в составе продуктов питания, так и препараты профилактического и лечебного действия для нужд медицины, ветеринарии, косметологии [23].

Продуктом биомодификации вторичного коллагенсодержащего сырья мясной промышленности на основе дифференцированного подхода к переработке (рис. 1) с учетом систематизации по микроструктурным характеристикам и соотношения белок-жир [2, 8, 10] являются функциональные коллагеновые субстанции. Их функциональность широко востребована при разработке новых, экологически чистых пищевых продуктов, обогащенных пищевыми волокнами, в том числе с нанесением съедобных пищевых покрытий.

Барьерные свойства пищевых покрытий на основе коллагена могут быть улучшены путем иммобилизации на коллагеновом носителе биологически активных веществ.

© 2014 г. Глотова И.А., Галочкина Н.А.

* **Автор для переписки:**

Галочкина Надежда Алексеевна

аспирант,

Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I

394087 Воронеж, ул. Мичурина, 1

Тел.: +7 (473) 253-71-66

E-mail: galochkina.na@mail.ru

В качестве носителя биологически активных и лекарственных веществ апробированы коллагеновые фракции, извлеченные из кожных покровов прудовых рыб путем жидкостных обработок [23]. Аналогичный подход к получению коллагенсодержащих носителей БАВ реализован на примере флавоноидов растительного сырья, входящих в состав соответствующих CO₂-экстрактов [6], а также селенсодержащих препаратов неорганической [1] и органической природы [7].

Дозированное обогащение продуктов на мясной и рыбной основе селеном как неспецифическим био-корректором реализовано путем иммобилизации селена в составе диметилдипиразолиселенида на коллагеновые носители с последующим их внесением в рецептурно-компонентный состав изделий в качестве пищевых добавок [1]. Анализ источников научно-технической литературы показывает, что аналогичный подход актуален для объектов молочной промышленности, поскольку молочные продукты традиционно пользуются высоким потребительским спросом населения, нуждающегося в коррекции статуса питания [5, 13, 15].

Цель работы — совершенствование биотехнологических подходов к получению коллагеновых субстанций, обладающих высокой сорбционной способностью в отношении биобезопасных источников селена и совместимых по функционально-технологическим и органолептическим свойствам с пищевыми системами на основе составных частей молока для расширения ассортимента обогащенных селеном структурных молочных продуктов.

При получении функциональных коллагеновых субстанций были использованы:

- жилки и сухожилия, выделенные при жиловке крупного рогатого скота в колбасных цехах мясокомбинатов (ОАО «Донской», г. Воронеж, ИП «Четыре пингвина», г. Воронеж) при разделке говядины по ГОСТ 779;
- ферментный препарат «коллагеназа пищевая» (ТУ 2639-001-4554109-98, производитель ЗАО «Биопрогресс», г. Щелково Московской области).

Источником ферментного препарата «коллагеназа пищевая» является гепатопанкреас камчатского краба — орган, совмещающий функции печени и поджелудочной железы в их пищеварительном тракте. Он представляет собой комплекс коллагенолитических протеиназ, молекулярная масса которых находится в пределах 23–36 кДа. Преобладающими компонентами в питании крабов являются кожа рыб и соединительная ткань моллюсков, червей, содержащие значительные количества коллагена. Это свидетельствует о том, что пищеварительные ферменты крабов адаптированы к деградации нативного коллагена — белка, устойчивого к действию протеиназ из других источников [19, 22].

Биомодифицированные коллагеновые субстанции получали в соответствии со схемой, представленной на рисунке 1.

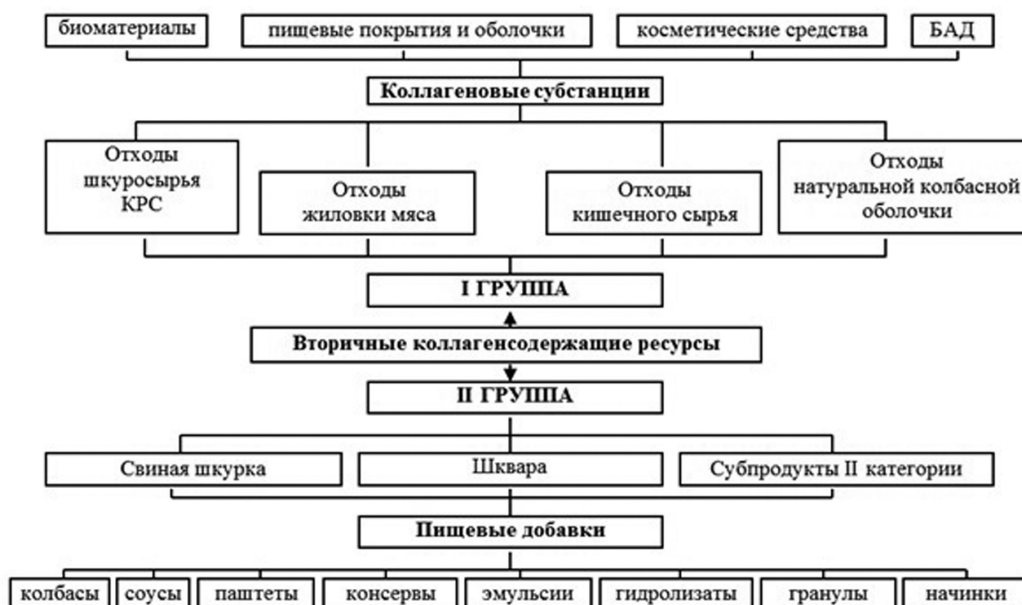


Рис. 1. Приоритетные направления использования вторичных коллагенсодержащих ресурсов при переработке животноводческих ресурсов

Исходное сырье — жилки, сухожилия, фасции, выделяемые на стадии жиловки говядины, промывали проточной водой, помещали в пероксидно-щелочной раствор, содержащий гидроксид натрия в концентрации 10% и пероксид водорода — 3%. Обработка в течение 6–10 ч при гидромодуле 1 : 2–2,5 обеспечивает равномерное взаимодействие пероксидно-щелочного раствора с исходным сырьем. Далее жидкую фракцию отделяли декантацией или центрифугированием, а твердый остаток коллагена промывали водой и нейтрализовали до рН 8,0–8,5, что входит в границы области рН, благоприятной для проявления коллагенолитической активности препарата «коллагеназа пищевая».

Для получения гидролизата коллагена твердый остаток нагревали до 36–38 °С, вносили раствор препарата «коллагеназа пищевая» в количестве 0,02% к массе остатка при гидромодуле 1 : 2–2,5 и выдерживали при периодическом перемешивании в течение 2,5–3,0 ч. После этого жидкую фракцию гидролизата отделяли декантацией или центрифугированием, промывкой водой удаляли остатки ферментного препарата.

Молекулярно-массовое распределение фракций биомодифицированных коллагеновых белков определяли по методу Лэммли в блоках полиакриламидного геля на приборе для SDS-электрофореза Mini-PROTEAN II Electrophoretic Cell (США) [18].

В качестве электродного буфера использовали Трис-глицин, рН 8,3, содержащий 0,1% додецилсульфата натрия. Полимеризацию рабочего геля осуществляли в Трис-НСl буфере с рН 8,8, содержащем 0,1% додецилсульфата натрия. Для полимеризации формирующего геля использовали Трис-НСl буфер с рН 6,8, молярной концентрацией 0,0625 моль/дм³, содержащий 0,1% додецилсульфата натрия.

Параметры силы тока: в течение первых 30 минут — 50 мА на блок, последующие 3 ч — 80 мА до достижения бромфеноловым синим конца гелевого блока.

По окончании электрофореза освободившийся гель помещали в камеру для окрашивания, содержащую водный раствор Кумасси R-250 с массовой долей 0,1% изопропанола с объемной долей 25% и уксусной кислоты с массовой долей 10%. Обесцвечивание осуществляли в течение нескольких часов в растворе уксусной кислоты с массовой долей 10% и изопропанола с объемной долей 15% [17]. Массовое соотношение белковых фракций определяли путем сканирования гелевой пластины на сканере и обработкой изображения с помощью программы Adobe Photoshop CS3.

В качестве источника селена для последующей модификации коллагенового гидролизата использовали искусственно синтезированную органическую форму селена — 4,4-ди[3(5-метилпиразолил)]селенид, сокращенное название — ДМДПС (ТУ 9291-007-59582032 производитель — ООО «Сафрон», г. Москва, санитарно-эпидемиологическое заключение № 77.99.13.003.Т.000518.03.06, в 2002 г. разрешен в качестве БАД). Применяли жидкую форму препарата с содержанием 0,657 г ДМДПС в 100 см³. По данным Всероссийского научно-исследовательского института патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии, ДМДПС в настоящее время представляет собой самое малотоксичное соединение селена, обладающее слабой кумулятивностью [24]. Коллагеновый гидролизат выдерживали с ДМДПС из расчета 1,2 мкг селена на 1 г гидролизата коллагена в течение 2–4 ч. Полученную массу нейтрализовали до рН 7,0, используя пищевую органическую кислоту, уксусную или аскорбиновую. В случае использования для нейтрализации аскорбиновой кислоты получаемый продукт дополнительно был обогащен аскорбинатом натрия.

Порошкообразную форму биомодифицированной селенсодержащей коллагеновой субстанции получали путем вакуум-сублимационного обезвоживания, используя лабораторную установку УСС-5.

Общий химический состав селенсодержащих коллагеновых субстанций определяли, используя следующие методы: массовую долю влаги — термogrавиметрически по ГОСТ 9793; жира — методом Сокслета и рефрактометрически [4]; белка — методом Кьельдаля, с предварительной минерализацией образца и титриметрической идентификацией результатов определения. Содержание селена в образцах определяли флуориметрически в соответствии с рекомендациями [12]. Влагосвязывающую способность (ВСС) — методом прессования [4]; водоудерживающую способность (ВУС) — расчетным методом в соответствии с рекомендациями [4].

Антиоксидантную активность коллагеновых субстанций, ДМДПС и продуктов его иммобилизации на коллагеновых субстанциях определяли амперометрически на приборе «ЦветЯуза-01-АА».

Результаты и обсуждение

Организация коллагеновых структур в составе сухожилий, связок, фасций характерна как параллельным расположением волокон и пучков, так и их переплетением под различным углом с развитым межклеточным

матриksom. При этом массовая доля водо-, соле- и щелочерастворимой белковых фракций в отходах жиловки говядины составляет соответственно 5,6, 7,4, 20%, в том числе 19,9% коллагена [2]. Специфическая пространственная организация молекул коллагена с образованием трехцепочечной левозакрученной α -спирали обусловлена специфическим аминокислотным составом этого белка с большим количеством реакционноспособных групп. Однако наличие внутри- и межмолекулярных поперечных связей ограничивают сорбционную емкость коллагена в структуре соединительных тканей.

Различия в базовых технологических схемах получения коллагеновых субстанций, используемых для иммобилизации биологически активных веществ, касаются последовательности технологических операций, условий и режимов жидкостных обработок, что, в конечном счете, сопряжено с расходом химических реагентов, объемами формируемых технологических стоков, экологической и энергетической эффективностью разрабатываемой модифицированной технологии получения коллагеносодержащих дисперсионных систем, свойства которых удовлетворяли бы требованиям к гидрогелевой матрице для иммобилизации препаратов селена применительно к технологии структурированных кисломолочных продуктов.

В соответствии с рекомендациями [7], технологическая схема производства коллагеновой основы для получения селенсодержащей добавки реализуется на этапах: приемка, сортировка коллагеносодержащего сырья; промывка в течение 2–3 ч; пероксидно-щелочной гидролиз в течение 6 ч при температуре 16–25 °С; промывка проточной водой в течение 30 мин.; измельчение на волчке с диаметром отверстий решетки 2–3 мм; нейтрализация раствором соляной кислоты молярной концентрацией 0,5 моль/дм³; разделение твердой и жидкой фракций центрифугированием; гидролиз с использованием препарата «коллагеназа пищевая» при дозировке 0,6% к

массе сырья, температуре 37–40 °С, гидромодуле 1 : 2 в течение 2,5–3,0 ч.

Для альтернативной технологической схемы, рекомендованной для производства коллагеновой основы с иммобилизованными биофлавоноидами в технологии пленкообразующих композиций, характерны аналогичные технологические операции, однако пероксидно-щелочной гидролиз проводят на заключительном этапе, а измельчение на волчке предшествует ферментативному гидролизу [6].

Принимая во внимание необходимость минимизации количества и продолжительности технологических операций, расхода химических реагентов и биокатализаторов при реализации модифицированной технологии получения коллагеновых субстанций с большим количеством ионогенных групп для иммобилизации селена в составе ДМДПС, представляется целесообразным проводить операции по выделению, очистке и биомодификации коллагена из жилок и сухожилий крупного рогатого скота в соответствии с модифицированной технологической схемой, изображенной на рисунке 2.

Для повышения сорбционной емкости коллагена его выделяли из соединительных тканей, для чего проводили их пероксидно-щелочной гидролиз, а затем получали гидролизат коллагена выдержкой его с ферментным препаратом «коллагеназа пищевая» при условиях, оптимальных для действия этого препарата: температура 36–38 °С, рН 8,5.

Для пероксидно-щелочного гидролиза соединительных тканей на начальном этапе обработки применяли композицию, состоящую из раствора гидроксида натрия с массовой долей 10% и раствора пероксида водорода с массовой долей 3% в соотношении 10 : 1 с учетом рекомендаций [6]. Механизм действия гидроксида натрия состоит в нарушении и ослаблении некоторых водородных мостиков, частичном разрыве белково-углеводных мембран, окружающих пучки коллагеновых фибрилл.

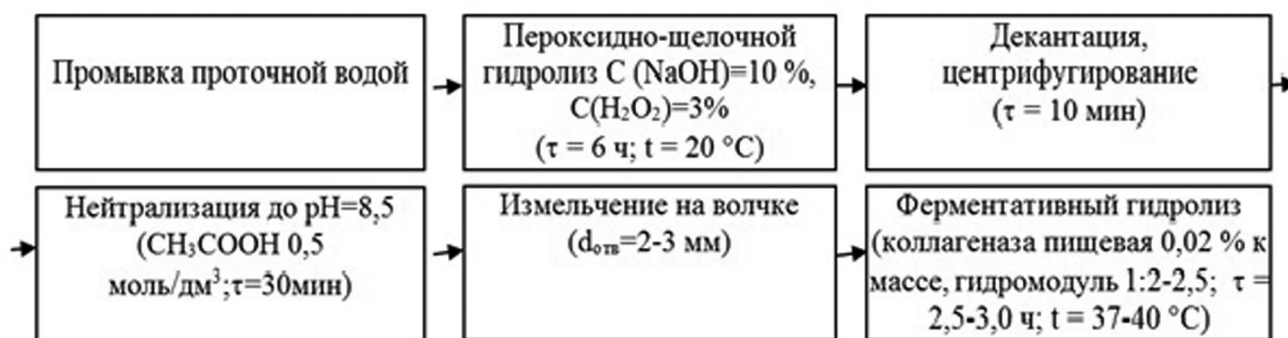


Рис. 2. Последовательность операций при получении гидролизата коллагена для последующей модификации ДМДПС

При обработке соединительных тканей в растворе, содержащем гидроксид натрия и пероксид водорода, в результате взаимодействия этих двух компонентов происходит экзотермическая реакция, которая интенсифицирует процесс разрыва водородных связей, что приводит к разрыхлению структуры ткани и деструкции балластных веществ (водо- и солерастворимые белковые и липидные фракции).

При получении биомодифицированных коллагеновых субстанций решающее значение при формировании комплекса функциональных свойств имеет молекулярная масса получаемых в результате процесса гидролиза белковых фракций.

Молекулярную массу фракций продуктов модификации коллагена определяли, используя экспериментальные данные, характеризующие относительную электрофоретическую подвижность (R_f), с помощью соответствующего калибровочного графика в координатах: $R_f - \lg M_r$, где $\lg M_r$ — десятичный логарифм молекулярной массы. Результаты представлены на рисунке 3 и в таблицах 1–2.

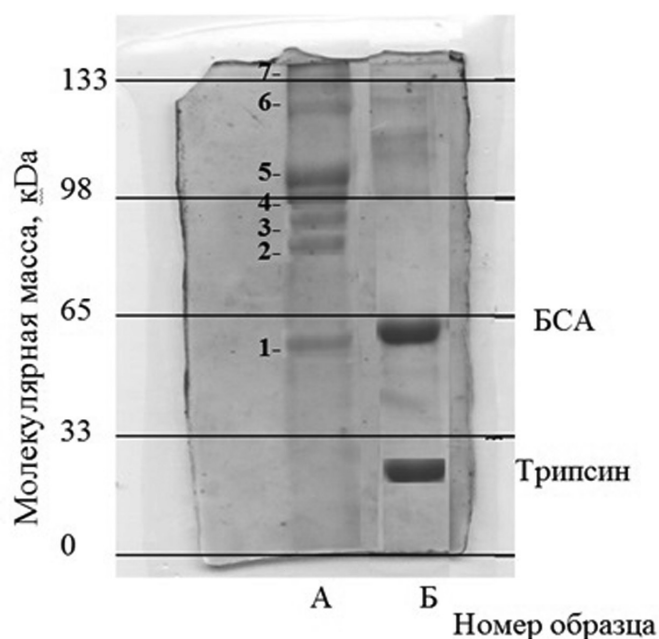


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов биомодификации коллагена. А — экспериментальный образец, Б — белки-маркеры (БСА — бычий сывороточный альбумин)

Цифровую оценку интенсивности полипептидов, превалирующих в составе продуктов биомодификации коллагена, проводили в соответствии с рекомендациями (Раупе Р.И., 1986): «1» — слабый, «2» — интенсивный, «3» — очень интенсивный, «—» — отсутствует [25].

Таблица 1

Относительная электрофоретическая подвижность (R_f), молекулярная масса и массовая доля фракций полипептидов в составе продуктов модификации коллагена

Номер фракции	R_f , отн. ед.	Молекулярная масса фракций, кДа	Массовая доля фракций, %
1	0,512	62	13
2	0,307	82	10
3	0,248	98	10
4	0,123	100	30
5	0,112	110	13
6	0,103	125	12
7	0,89	134	12

Таблица 2

Интенсивность линий в баллах на электрофореграмме, соответствующих продуктам биомодификации коллагена с фиксированной молекулярной массой

Наименование образца, расположение на электрофореграмме	Интенсивность линий в «баллах», соответствующих продуктам биомодификации коллагена с молекулярной массой, кДа								
	24	62	64	82	98	100	110	125	134
Экспериментальный образец (дорожка А)	—	1	—	2	2	3	2	2	2
Белки-маркеры:									
БСА (дорожка Б)		—	3	—		—	—	—	—
Трипсин (дорожка Б)	3	—	—	—		—	—	—	—

Согласно данным (Руденская Г.Н., 2003), процессы ферментативного гидролиза коллагена под действием истинных коллагеназ приводят к значительному уменьшению количества тримеров и димеров β -цепей. При этом происходит значительное возрастание количества свободных α -цепей, а также β - и γ -компонентов и повышается количество реакционноспособных групп [20].

Относительно высокая интенсивность линий, соответствующих фракциям полипептидов с большей молекулярной массой, в диапазоне от 82 до 134 кДа позволяет говорить о меньшем деструктивном воздействии избранных режимов жидкостных обработок

(пероксидно-щелочной и ферментативной) по сравнению с известными аналогами [6, 7].

Исходя из литературных данных (Зайдес А.А., 1968, 1972), легкие фракции состоят в основном из α -компонентов, представляющих собой отдельные одинарные цепи первоначальной трехспиральной макромолекулы коллагена, и из β -компонентов, образующихся за счет внутримолекулярного взаимодействия α -компонентов. Фракции с молекулярной массой более 100 кДа представлены различными типами γ -компонентов коллагена, состоящими из трех отдельных цепей и представляющими собой тримеры α -компонентов.

Полученные селенсодержащие коллагеновые субстанции характеризуются показателями, представленными в таблице 3, что позволяет отнести их к гидроколлоидам.

Таблица 3

Химический состав и функционально-технологические свойства селенсодержащих коллагеновых субстанций

Наименование показателей	Характеристика и значение показателей для образцов субстанций в технологических формах	
	Гелеобразная	Порошкообразная
Цвет	Желтоватый	Белый с кремовым оттенком
Запах	Нейтральный	
Массовая доля, %:		
влаги	82,70	4,42
белка	16,56	90,28
зола	0,71	4,92
жира	0,3	0,38
Концентрация селена, мкг/г	1,2	7,9
ВСС, %	7,69	26,42
ВУС, %	39,37	88,7

Препараты гидроколлоидов находят широкое применение в молочной промышленности при производстве творожных продуктов, творожных паст, десертных изделий, выполняя функции структурообразователей и аналогов пищевых волокон [11, 14]. При этом положительные технологические эффекты связаны с их влаго-

связывающей способностью и структурообразующими свойствами.

Полученные по модифицированной технологической схеме коллагеновые субстанции, помимо функций гидроколлоидов в пищевых системах, дополнительно обеспечивают возможность дозированного обогащения селеном пищевых, в том числе молочных продуктов, являясь источником антиоксидантов при следующем суммарном их содержании в образцах, мкг/г: гидролизат коллагена – 0,5; гидролизат коллагена с иммобилизованным ДМДПС – 22,6. Снижение суммарной антиоксидантной активности иммобилизованного на гидролизате коллагена ДМДПС по сравнению с исходным препаратом органического препарата селена невелико и составляет около 5%.

Заключение

Сопоставительный анализ показывает, что использование более щадящих режимов биомодификаций коллагенсодержащего сырья по сравнению с реализованными ранее [25] – исключение предварительного измельчения сырья, снижение дозировки препарата «коллагеназа пищевая» с 0,6 до 0,02% к массе сырья обеспечивает получение продукта, молекулярно-массовое распределение полипептидных фракций в составе которого характеризуется следующим соотношением: 62 кДа – 13%, свыше 80 до 100 кДа – 50%, свыше 100 кДа – 37%, в том числе свыше 120 кДа – 24%.

Биомодифицированные селенсодержащие коллагеновые субстанции могут быть получены в двух технологических формах: гелеобразной и порошкообразной. Полученное массовое соотношение белковых фракций в составе продуктов биомодификации коллагена позволяет обеспечить, с одной стороны, сорбционную емкость в отношении органического селена, а, с другой, в отношении молекул воды, что обуславливает свойства гидроколлоидов, связанные с их влагосвязывающей способностью и структурообразующими свойствами, включая способность формировать пространственный каркас в пищевых системах на молочной основе.

Литература

1. Антипова Л.В., Болтыхов Ю.В., Вторушина И.В., Глотова И.А., Прянишников В.В. Разработка пищевых добавок для защиты биосистем с использованием компьютерного моделирования нанобъектов // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2008. – № 11. – С. 44–46.

2. Антипова Л.В., Глотова И.А. Использование вторичного коллагенсодержащего сырья мясной промышленности. — СПб.: ГИОРД, 2006. — 384 с.
3. Антипова Л.В., Глотова И.А., Гребенщиков А.В., Дворянинова О.П., Болтыхов Ю.В., Сторублевцев С.А. Структурная организация коллагенов в получении продуктов для пищевой промышленности, косметологии, ветеринарии / В кн.: Материалы Пятого съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова: Пушкино, 2–4 декабря 2008 г. Под. ред. Р.Г. Василова. — М.: МАКС Пресс, 2008. — С. 21–23.
4. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. — М.: Колос, 2001. — 376 с.
5. Антипова Л.В., Успенская М.Е., Рассадников Е.А., Беляева Н.И., Борисова А.В. Проектирование индивидуализированных рационов питания студентов на основе комплексного анализа компонентного состава тела и пищевого статуса // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2012. — № 1. — С. 119.
6. Болтыхов Ю.В. Получение и применение коллагенсодержащих пленкообразующих композиций в технологии мясных продуктов: автореф. дис. ... канд. техн. наук. — Воронеж, 2009. — 24 с.
7. Вторушина И.А. Получение и применение иммобилизованных коллагеновых препаратов селена в технологии мясных и рыбных рубленых полуфабрикатах: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.18.07. — Воронеж, 2012. — 26 с.
8. Глотова И.А. Инновационные направления в использовании вторичного коллагенсодержащего сырья // Мясные технологии. — 2010. — № 7. — С. 56–59.
9. Глотова И.А. Развитие научных и практических основ рационального использования коллагенсодержащих ресурсов в получении функциональных добавок, продуктов и пищевых покрытий: дис. ... докт. техн. наук: 05.18.04, 05.18.07. — Воронеж, 2003. — 382 с.
10. Глотова И.А., Галочкина Н.А., Болтыхов Ю.В. Функциональные коллагенсодержащие субстанции на основе вторичных продуктов животноводства // Известия вузов. Пищевая технология. — 2012. — № 4. — С. 16–19.
11. Дунченко Н.И., Кононов Н.С., Коренкова А.А. Математическое моделирование процесса структурообразования в йогуртных продуктах // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. — 2002. — № 2–3. — С. 64–66.
12. МУК 4.1.033-95. Определение селена в продуктах питания. Методические указания. Утв. Госкомсанэпиднадзором РФ 24.07.1995.
13. Наумова Н.Л., Ребезев М.Б. Микроэлементный статус челябинцев как обоснование развития производства обогащенных продуктов питания // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 4 (часть 1). — С. 196–200.
14. Неклюдов А.Д. Пищевые волокна животного происхождения. коллаген и его фракции как необходимые компоненты новых и эффективных пищевых продуктов // Прикладная биохимия и микробиология. — 2003. — Т. 39. — № 3. — С. 261–272.
15. Пат. 2232518 РФ Состав для коррекции статуса питания / Груздева А.Е. (RU), Рахманов Р.С. (RU), Гришатов Н.В. (RU), Крылова Е.А. (RU) — № 2002112182/13. заявл. 06.05.2002. опубл. 20.07.2004.
16. Пат. Способ получения функционального коллагенового гидролизата / Л.В. Антипова, С.А. Сторублевцев — № 2009118048/13. заявл. 12.05.2009. опубл. 12.05.2009.
17. Пащенко В.Л., Сторублевцев С.А. Разработка технологии функционального продукта с применением коллагенового гидролизата // Фундаментальные исследования. — 2011. — № 4. — С. 127–135.
18. Побежимова Т.П., Колесниченко А.В., Грабельных О.И. Методы изучения митохондрий растений. Полярография и электрофорез. — М.: ООО «НПК «ПРОМЭКОБЕЗОПАСНОСТЬ», 2004. — 98 с.
19. Попов А.М. и др. Полифункциональные фармакологические свойства пептидов коллагена из морских иглокожих // Биофармацевтический журнал. — 2012. — Т. 4. — № 5. — С. 5–16.
20. Руденская Г.Н. Брахиурины — сериновые коллагенолитические ферменты крабов (обзорная статья) // Биоорганическая химия. — 2003. — Т. 29(2). — С. 117–128.
21. Сторублевцев С.А. Получение и применение функционального гидролизата коллагена соединительных тканей сельскохозяйственных животных: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.18.07. — Воронеж, 2009. — 22 с.
22. Сторублевцев С.А., Пащенко В.Л. Биомодификация коллагенсодержащего сырья ферментными препаратами протеолитического действия // Хранение и переработка сельхозсырья. — 2011. — № 2. — С. 51–54.
23. Хаустова Г.А. Разработка технологий глубокой переработки рыбного шкурсырья для получения коллагена, гиалуроновой кислоты и готовых кож: дис. ... канд. техн. наук: 05.18.07. — Воронеж, 2013. — 215 с.
24. Шабунин С.В., Беляев В.И., Дубовской И.И., Курило Н.Ф., Балым Ю.П., Алехин Ю.Н. Селен. Биологические свойства и применение в животноводстве и ветеринарии. — Воронеж. — Нядва, 2007. — 194 с.
25. Payne P.I. Varietal improvement in the bread-making quality of wheat: contributions from biochemistry and genetics, and future prospects from molecular biology / In: WORKSHOP Biotechnology and Crop Improvement and Protection, London. — 1986. — P. 68–81.

JUSTIFICATION OF THE CONDITIONS FOR OBTAINING FUNCTIONAL BIOMODIFIED COLLAGEN SUBSTANCES

I.A. GLOTOVA, N.A. GALOCHKINA

Emperor Peter I Voronezh State Agrarian University, Voronezh

The modified process flow diagram for biomodified collagen substances of tendons, fascia, allocated to stage trimming beef in sausage production. Collagen substance can be obtained in two process forms a gel and powder. The molecular weight distribution of fractions polypeptide comprising a collagen substance is characterized by the following relation: 62 kDa – 13%, more than 80 up to 100 kDa – 50%, more than 100 kDa – 37%, including more than 120 kDa – 24%. This ensures that the properties of hydrocolloids in food systems, including dairy and sorption capacity concerning the preparation of organic selenium is used as dimethyldipirazolil selenide.

Keywords: collagen, biomodification, food biotechnology, polypeptide fraction, hydrocolloids, antioxidant activity, dimethyldipirazolil selenide.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ГЕЙНЕРОВ ДЛЯ СПОРТИВНОГО ПИТАНИЯ НА ОСНОВЕ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ РЫБНОЙ ЧЕШУИ

О.Я. МЕЗЕНОВА^{1*}, Н.Ю. МЕЗЕНОВА¹, Л.С. БАЙДАЛИНОВА¹,
ЙОРГ-ТОМАС МЕРСЕЛЬ², А. ХЕЛИНГ³

¹ Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия;

² Научно-исследовательская лаборатория UBF GmbH, Атландсберг,

³ Биотехнологический центр ANiMOX GmbH, Адлерсхоф, Берлин, Германия

Изучен аминокислотный состав чешуи леща и сардинеллы. Рассмотрены процессы ферментативного расщепления белка под действием трех видов ферментов и гидротермического гидролиза чешуи. Установлена биологическая ценность активных пептидов гидролизатов коллагена чешуи и рациональность их сочетания с пчелиной пыльцой. Предложен состав гейнера для спортивного питания, обоснованы рекомендации по его применению.

Ключевые слова: пищевая биотехнология, рыбная чешуя, пептиды, гидролизаты, спортивное питание, гейнеры.

Введение

В спортивном питании сегодня особенно востребованы белково-углеводные смеси (гейнеры), вызывающие энергетический эффект и анаболическое действие, в состав которых входят активные пептиды [1]. Активные пептиды — это фрагменты аминокислотных цепочек с молекулярной массой менее 50 кДа [2]. Они регулируют большинство процессов организма человека, принимают участие в регенерации клеток, защищают организм от попавших в него токсинов. Анаболизирующее действие активных пептидов и отдельных аминокислот (АК) связано с их способностью стимулировать выделение гормонов, ответственных за увеличение массы работающих мышц и повышение силовых возможностей спортсмена [4]. У спортсменов имеет место дефицит пептидов, который существенно ускоряет износ тканей, приводит к ослаблению и старению всего организма [1].

В Калининградском отделении Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова на кафедре пищевой биотехнологии ФГБОУ ВПО «КГТУ» нашли

эффективный источник натуральных активных пептидов. Это — гидролизованная рыбная чешуя.

Пептидные композиции, полученные гидролизом природного белка коллагена (основного белка рыбной чешуи), — это эффективный строительный материал для организма спортсмена, необходимый для роста и поддержания структурной целостности активно функционирующих органов и тканей [5, 6].

Важную роль для спортсменов играет аминокислотный состав активных пептидов. В спортивной практике наиболее значимыми аминокислотами являются аргинин, орнитин, лейцин, изолейцин, валин, лизин, глутамин, глицин, гистидин, аланин, аспарагиновая кислота, метионин, таурин, треонин, триптофан, фенилаланин [1].

Рыбная чешуя в больших количествах скапливается на рыбоперерабатывающих производствах (в частности, консервном). Она не используется даже на кормовые цели, несмотря на ценный белок коллаген в ее составе, так как не переваривается ферментами животных и в основном утилизируется. Это представляет серьезную экологическую и экономическую проблему. В состав коллагена входят аминокислоты, участвующие в строительстве и регенерации опорно-двигательного аппарата человека, несущего основную нагрузку в скоростно-силовых видах спорта [1, 4, 6].

В данной работе изучали получение ферментативным и гидротермическим путями из чешуи сардинеллы и леща гидролизатов, их аминокислотный биопотенциал, а также возможность их применения в составе специализированных гейнеров для спортсменов.

© 2014 г. Мезенова О.Я., Мезенова Н.Ю., Байдалинова Л.С., Мерсель Йорг-Томас, Хелинг А.

* Автор для переписки:

Мезенова Ольга Яковлевна

д.т.н., профессор, зав. кафедрой пищевой биотехнологии
Калининградского государственного технического университета
236022 Россия, Калининград, Советский проспект, 1

E-mail: mezenova@kgtu.ru

Аминокислотный состав белков чешуи
леща и сардинеллы

Название аминокислоты	Содержание аминокислоты в сухой чешуе			
	Лещ		Сардинелла	
	г/100 г белка	г/100 г чешуи	г/100 г белка	г/100 г чешуи
Аланин	9,96	6,84	11,2	5,6
Аргинин	4,33	2,98	7,9	4,0
Аспарагин	1,30	0,89	0,1	0,1
Аспарагиновая кислота	7,79	5,36	4,9	2,5
Карнозин	—	—	0,1	0,01
Цистин	0,87	0,6	0,0	0,0
Глутамин	1,30	0,89	0,8	0,4
Глутаминовая кислота	6,93	4,76	8,5	4,3
Глицин	29,44	20,23	26,0	13,1
Гистидин	2,16	1,49	1,2	0,6
Гидроксипролин	4,33	2,98	10,7	4,4
Лейцин (н)	1,73	1,19	2,7	1,3
Изолейцин (н)	0,00	0,00	1,0	0,5
Лизин (н)	2,16	1,49	4,0	2,0
Метионин (н)	1,73	1,19	0,0	0,0
Фенилаланин (н)	2,60	1,79	2,2	1,1
Фосфоэтаноламин	0,43	0,3	0,0	0,0
Пролин	6,93	4,76	11,7	5,9
Серин	9,09	6,25	2,9	1,5
Таурин	2,16	1,49	0,0	0,0
Треонин (н)	2,60	1,79	2,1	1,1
Тирозин	1,73	1,19	0,6	0,3
Валин (н)	0,43	0,3	1,5	0,8
Сумма незаменимых АК	11,25	7,75	13,5	6,8

Примечание: (н) — незаменимые аминокислоты

Из данных таблицы 1 видно, что чешуя рыб является источником почти всех незаменимых аминокислот (кроме триптофана, который разрушается при кислотном гидролизе при подготовке проб к хроматографическому анализу). Основными по массе аминокислотами гидролизата чешуи являются (% массы азотистой части): глицин (26–29,4), аланин (10–11,2), аспарагиновая кислота (4,9–7,8), глутаминовая кислота (6,9–8,5), пролин и гидроксипролин (соответственно 6,9–11,7 и 4,33–10,7). Данные аминокислоты чрезвычайно важны для питания не только опорно-двигательных тканей человека, но и многих метаболических процессов, происходящих в тканях мозга; они обладают антиоксидантным и анти-

Исследования проводились на кафедре пищевой биотехнологии КГТУ, в научно-исследовательских лабораториях Адлерсхофа и Атландсберга (Берлин, Германия). Чешую сардинеллы доставляли с рыбоконсервного комплекса ОАО «РосКон» (г. Пионерский, Калининградская обл.), она накапливается там в объемах до 10 тонн в месяц и не находит пока соответствующего применения. Чешую леща брали в рыболовецком колхозе «За Родину» (п. Взморье, Калининградская обл.), где она остается после выработки кулинарной продукции. Гидролиз осуществляли двумя способами — ферментативным путем и гидротермическим при температуре более 100 °С под давлением. Ферментативный гидролиз проводили под действием фермента коллагеназы из гепатопанкреаса краба (ОАО «Биопрогресс», п. Биокомбинат, г. Щелково), а также кислой и нейтральной протеаз. Гидротермический гидролиз проводили в управляемом закрытом цикле на испытательном оборудовании в биотехнологическом центре ANiMOX GmbH (Адлерсхоф, Берлин, Германия) при двух режимах — сильном (S) и среднем (M). Водорастворимую фракцию гидролизата высушивали сублимационно при температуре минус 20 °С и давлении 400 мкбар.

Другой вариант активных пептидов получали путем гидротермической деструкции высушенной и мороженой рыбной чешуи под давлением при высоких температурах (более 100 °С) в биотехнологическом центре ANiMOX (Адлерсхоф, Берлин). Эту серию экспериментов с целью анализа фракционного состава пептидов проводили по двум режимам гидротермолиза (S и M) в водной среде. Водную фракцию активных пептидов сублимировали, после чего она представляла собой мелкодисперсный светлый порошок с характерным слабовыраженным рыбным запахом. Общий химический состав опытных образцов, независимо от сырья и режимов гидротермолиза, отличался слабо и составлял (в %): сухие вещества — 2,8, вода — 97,2, причем сухие вещества включали (в %): протеины (96,6–98,5); жиры (0,9–1,36); минеральные вещества (1,24–2,03).

Результаты и обсуждение

Аминокислотный состав. Первоначально исследовали аминокислотный состав высушенной чешуи двух видов рыб (табл. 1), эксперименты проводили в научно-исследовательской лаборатории UBF Атландсберга (Untersuchungs Beratungs Forschungslaboratorium GmbH) в Германии.

токсическим действием, оказывают антидепрессивное действие, уменьшают токсический эффект. Пролин и гидроксипролин резко изгибают пептидную цепь белка, обеспечивая гибкость и прочность мышц. Повторяющаяся последовательность аминокислот (-глицин-аланин-глицин-), встречающаяся исключительно в рыбном коллагене чешуи, обеспечивает высокую антиоксидантную и антигипертензивную активность.

Важно присутствие в гидролизатах таурина (2,2% массы ферментолизата), который обладает поверхностной и противосудорожной активностью, играет роль нейромедиатора, оказывает кардиотропное действие, стимулирует репаративные процессы, улучшает энергетический обмен, обладает гепатопротекторным и гипотензивным действием.

Фракционный состав пептидов. Анализ показал преобладание фракций средней и низкой молекулярной массы. Так, при М-режиме гидролиза фракционный состав по массе имел следующее распределение (по длине молекул, в кДа): 20–50 (24,6%); 10–20 (22,8%); 5–10 (18,2%) и 1–5 (13,8%). В случае S-режима получали смесь пептидов с преимущественным содержанием

мелких фракций пептидов (в кДа): 1–5 (36,3%), 5–10 (31,4%), 10–20 (17,9%), 20–50 (6,5%). Содержание оксипролина в смесях как индикатора глубины гидролиза составило во всех случаях 8,64–9,20% массы чешуи (или 8,89–9,47% массы белка).

Из полученных данных можно сделать вывод, что гидротермолиз, проводимый без применения химических реагентов, позволяет при регулировании температуры и давления получать активные пептиды заданной длины и молекулярной массы.

Биологическая ценность пептидов. Биологическую ценность пептидов чешуи определяли по нескольким показателям. Сбалансированность аминокислотного состава относительно «идеального» белка оценивали по аминокислотному скору (АКС, %); избыточное количество незаменимых аминокислот — по коэффициенту различия аминокислотных скоров (КРАС, %), а через него определяли биологическую ценность (БЦ, %). Рациональности аминокислотного состава считали по коэффициенту R_c (в долях единицы) и показателю сопоставимой избыточности σ (мг/г белка) [2]. Значения данных характеристик приведены в таблице 2.

Таблица 2

Биологическая ценность белков чешуи исследуемых видов рыб

Название АК	Содержание АК в эталонном белке (ФАО ВОЗ), г/100 г белка	Чешуя леща		Чешуя сардинеллы	
		Содержание АК, г/100 г белка	Аминокислотный скор, АКС, %	Содержание АК, г/100 г белка	Аминокислотный скор, АКС, %
Лейцин (н)	4,8	1,73	36,04	2,7	56,25
Лизин (н)	4,2	2,16	51,43	4,0	95,24
Изолейцин (н)	4,2	0	0	1,0	23,80
Метионин (н)	2,9	1,73	41,19	0	0
Фенилаланин (н)	2,8	2,60	92,86	2,2	78,57
Треонин (н)	2,8	2,60	92,86	2,1	78,57
Триптофан (н)	1,4	0	0	0	0
Валин (н)	4,2	0,43	10,24	1,5	33,33
Сумма:	27,3	11,25		13,25	
Коэффициент различия аминокислотных скоров КРАС, %		44,53		37,16	
Биологическая ценность, БЦ, %		55,47		62,84	
Коэффициент рациональности аминокислотного состава, R_c		0,20		0,41	

Примечание: (н) — незаменимые аминокислоты

Сочетание пептидов с цветочной пыльцой.

Приведенные в таблице 2 значения коэффициентов свидетельствуют о достаточно высокой биологической ценности белков чешуи леща (55,5%) и сардинеллы (62,8%), однако аминокислотные скоры у многих незаменимых аминокислот были недостаточными для полноценного белкового питания (10,2–95,3%), что отражено в значениях коэффициентов КРАС (44,5–37,2) и рациональности аминокислотного состава (0,20–0,41). Полученные данные свидетельствуют о целесообразности введения в состав пищевой композиции гейнера, предназначенного для спортивного питания, дополнительного источника незаменимых аминокислот, что даст возможность повысить ее аминокислотную сбалансированность. Для этого было предложено использовать пчелиную пыльцу, богатую многими биологически активными веществами. Это: белок глобулин, моно-, ди-, олиго- и полисахара (глюкоза, фруктоза, сахароза, арабиноза, галактоза, рибоза и др.), нейтральные жиры и фосфолипиды, более 50 видов ферментов, эфирорастворимая фракция углеводов, стеролов, спиртов, макро- и микроэлементы (калий, кальций, фосфор и магний и др.), все водорастворимые витамины, активные нуклеиновые кислоты, гормоны роста, антисептические и антибиотические вещества (органические кислоты, флавоноиды, терпены, алкалоиды, эфиры и др.). Известно также, что пыльца обладает общеукрепляющим действием, способствует повышению умственной и физической активности организма. Присутствие в пыльце активных мужских половых органов цветущих растений обуславливает мощное эрогенное действие пчелиной пыльцы [3].

При введении цветочной пыльцы в состав гейнера на основе гидролизованной рыбной чешуи существенно повышается аминокислотная сбалансированность белков итоговой композиции, так как в них присутствуют все незаменимые аминокислоты, особенно преобладают лейцин (7,10–9,00%), лизин (6,30–7,70%) и валин (5,80–11,20%) (табл. 3).

При проведении гидролиза чешуи рыб ферментативным путем дозировки ферментов составляли 2% к ее массе, величины гидромодуля – 11,5. Во всех случаях в систему вводили 10% этанола для предотвращения микробальной порчи. Результаты ферментативного гидролиза, измеренные по содержанию аминного азота (формольно-титруемого азота – ФТА) в водорастворимой части гидролизата, приведены в таблице 4.

Из данных таблицы 4 следует, что наибольшей активностью по отношению к белкам чешуи обладает фермент коллагеназа. Уже через 24 ч гидролиз чешуи с

коллагеназой и кислой протеазой может быть прекращен, так как дальнейший прирост его продуктов по содержанию ФТА составляет всего 10%.

Таблица 3

Аминокислотный состав пчелиной пыльцы [3]

Аминокислоты	% от общего содержания белка
Незаменимые аминокислоты	
Валин	5,80–11,20
Лизин	6,30–7,70
Метионин + Цистеин	1,70–2,40
Фенилаланин	4,10–5,90
Лейцин	7,10–9,0
Изолейцин	5,10–7,0
Треонин	4,10–5,30
Триптофан	1,20–1,60
Заменимые аминокислоты	
Аргинин	4,60–6,0
Тирозин	9,30–9,80
Аланин + Глицин	0,50–0,53
Гистидин	2,50–3,20
Глутаминовая кислота	8,80–9,50
Серин	2,0–2,20

Таблица 4

Глубина гидролиза чешуи сардинеллы под действием различных ферментов (условия гидролиза: продолжительность – 24–48 ч; температура – 37 °С)

Фермент, протеолитическая активность	Содержание аминного азота (ФТА), мг/100 г при продолжительности гидролиза	
	24 ч	48 ч
Коллагеназа, 172 ед./мг	804,6	892,7
Кислая протеаза, 600 ед./мл	225,3	246,2
Нейтральная протеаза, 600 ед./мл	160,90	209,9

По окончании процесса ферментативного гидролиза жидкую фракцию (гидролизат) отделяли фильтрованием и использовали в качестве основы гейнера для введения других компонентов – цветочной пыльцы, L-карнитина, экстракта мяты. В последнюю очередь вводили желатин, который переводил композицию в желеобразное состояние. Конечный продукт представлял собой белково-углеводную смесь в виде «желатинок», являясь источником активных пептидов и углеводов (более 50% массы).

Исследование химического состава готовой продукции показало, что она представляет собой преимущественно белково-углеводную смесь (гейнер), которая содержит (в %): жира — 1,42; минеральных веществ — 3,25; белка — 19,8; углеводов — 13,1. Благодаря сбалансированному содержанию активных пептидов, углеводов, витаминов и других биологически активных веществ разработанные гейнеры имеют эргогенный эффект, позволяя при их систематическом употреблении тренироваться спортсменам дольше и эффективнее.

Заключение

Таким образом, на основании проведенного исследования, с учетом содержания функциональных веществ (незаменимых аминокислот, кальция, фосфора, эссенциальных углеводов) новые гейнеры рекомендованы к употреблению 2 раза в день по 50 г преимущественно спортсменам скоростно-силовых видов спорта.

Результаты выполненной работы свидетельствуют о перспективности применения гидролизатов рыбной

чешуи, содержащих активные пептиды, в составе натуральных продуктов спортивного назначения.

Литература

1. Волков Н.И., Олейников В.И. Эргогенные эффекты спортивного питания. — М.: Советский спорт, 2012. — 99 с.
2. Мезенова О.Я. Проектирование комбинированных продуктов питания. — Калининград: Изд-во ФГБОУ ВПО «КГТУ», 2012. — 172 с.
3. Уварова Л.М. Разработка технологии пробиотических творожных сырков, обогащенных цветочной пыльцой: автореферат канд. дисс. — Благовещенск, 2012. — 17 с.
4. Bioactive Marine Peptides (Ed. S.K. Kim). — Academic Publishers Tokyo University of Marine Science and Technology, Tokyo, Japan, 2012. — 132 p.
5. Cheung I.W.Y. Bioactive peptides derived from marine fish // Food Chemie. — 2010. — Vol. 122. — P. 1003–1012.
6. Maximising the value of marine by-products: edited by Fereidoon Shahidi. — Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 2010. — 213 p.

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF GAINERS FOR SPORTS NUTRITION, BASED ON ACTIVE PEPTIDES OF FISH SCALES

O.Y. MEZENOVA¹, N.Y. MEZENOVA¹, L.S. BAYDALINOVA¹,
JOERG THOMAS MOERSEL², A. HOELING³

¹ Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia;

² Untersuchungs Beratungs Forschungslaboratorium GmbH, Atlandsberg,

³ ANiMOX GmbH, Adlershof, Berlin, Germany

Amino acid composition of bream and sardine scales was studied. Processes of enzymatic cleavage of the protein under the influence of three types of enzymes and hydrothermal hydrolysis scales were considered. Biological value of active peptides of collagen hydrolysates scales and rationality of their combination with bee pollen was determined. Composition gainer for sports nutrition has been proposed and recommendations for its use were justified.

Keywords: food biotechnology, fish scales, peptides, hydrolysates, sports nutrition, gainers.

АНОД МИКРОБНОГО БИОТОПЛИВНОГО ЭЛЕМЕНТА НА ОСНОВЕ ТЕРМОРАСШИРЕННОГО ГРАФИТА

А.Е. КИТОВА¹, А.С. САМОЙЛОВА², А.В. МАЧУЛИН¹, Л.Д. АСУЛЯН²,
В.В. КОЛЕСОВ³, Р.Г. ВАСИЛОВ⁴, А.Н. РЕШЕТИЛОВ^{1,4*}

¹ ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина» РАН, Пущино;

² ФГБОУ ВПО «Тульский государственный университет», Тула;

³ ФГБУН «Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова» РАН,

⁴ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

В качестве материала анода были исследованы терморасширенный графит и спектральный графит. Биокатализатором являлись бактериальные клетки *Gluconobacter oxydans*, иммобилизованные на поверхности анода. Проведено сравнение мощностных характеристик биотопливного элемента для анодов на основе терморасширенного графита и спектрального графита с иммобилизованными методом физической адсорбции клетками и включением в гель поливинилового спирта. Наиболее высокое значение электрической мощности (≈ 6 мкВт/см² при 100 мВ; внутреннее сопротивление биотопливного элемента порядка 1,7 кОм) получено при иммобилизации микробных клеток адсорбцией на терморасширенном графите.

Ключевые слова: микробный биотопливный элемент, терморасширенный графит, спектральный графит, *Gluconobacter oxydans*.

Введение

Биотопливные элементы (БТЭ) преобразуют энергию биохимического окисления органических субстратов в электрическую энергию, позволяя использовать электрохимически пассивные вещества в качестве топлива. При формировании БТЭ на основе иммобилизованных клеток микроорганизмов основополагающим моментом является подбор носителя и метода иммобилизации. Терморасширенный графит (ТРГ) — углеродный материал, который характеризуется высокой удельной площадью поверхности. Средняя величина площади поверхности составляет до 5000 м² на 1 грамм [4]. Такое свойство может обеспечивать высокую плотность бактерий, как при сорбции клеток, так и при иммобилизации в различные гели. В качестве материала анода БТЭ в данной работе использовали ТРГ, так как этот материал обладает высокой электропроводностью, может долгое время находиться в эксплуатации и достаточно доступен.

Одним из самых распространенных методов иммобилизации клеток является физическая адсорбция на различных носителях — бумаге, стекле, нейлоне, ацетилцеллюлозе, углеродных материалах [5]. Преимуществом такого метода является то, что он обычно безреагентен, и требует минимальной активационной очистки и обработки биоматериала. Метод исключает использование токсичных соединений и делает возможным сохранение жизнеспособности клеток.

Эффективным методом иммобилизации клеток служит их включение в гели. Полимерные гели предотвращают вымывание клеток микроорганизмов и обеспечивают доступ субстратов и кислорода. Для иммобилизации биоматериала часто используется поливиниловый спирт (ПВС). Полимер — гелеобразователь поливиниловый спирт — химически и микробиологически стабилен, нетоксичен и биосовместим, поэтому может быть эффективно использован в качестве матрицы для иммобилизации клеток микроорганизмов с целью долговременной и операционной стабильности биорецепторных элементов.

Новым подходом при иммобилизации микроорганизмов представляется использование N-винилпирролидона для модификации ПВС [1]. N-винилпирролидон не только практически не токсичен, но и повышает активность ферментных систем некоторых микроорганизмов [2].

© 2014 г. Китова А.Е., Самойлова А.С., Мачулин А.В., Асулян Л.Д., Колесов В.В., Васильев Р.Г., Решетилов А.Н.

* Автор для переписки:

Решетилов Анатолий Николаевич, д.х.н., профессор,
НИЦ «Курчатовский институт», НТК биоэнергетики
123182 Москва, пл. Академика Курчатова, 1
E-mail: anatol@ibpm.pushchino.ru

В цель работы входило определение и сравнение параметров работы БТЭ (токовых и мощностных характеристик электродов) на основе иммобилизованных бактерий *Gluconobacter oxydans* на поверхности электродов из ТРГ путем включения в пленку модифицированного N-винилпирролидоном поливинилового спирта (ПВС-N-ВП) и методом физической адсорбции.

Материалы и методы

В работе использовали штамм *Gluconobacter oxydans* ВКМ В-1280 (Всероссийская коллекция микроорганизмов). Для иммобилизации клеток *G. oxydans* использовали раствор ПВС, модифицированный N-винилпирролидоном: молярная масса (М.м.) ПВС=63000, степень гидролиза ацетатных групп — 98,4%. Доля сшитого полимера в модифицированном образце — 11%. В ходе эксперимента использовали электроды из терморасширенного графита и электроды из спектрального графита.

Ячейка биотопливного элемента представляла собой две взаимосвязанные кюветы, объем анодного отделения был равен объему катодного и составлял 3 мл. В качестве катода использовали стержни спектрального графита диаметром 6 мм, которые погружали в раствор на глубину 6 мм. В качестве анода использовали электроды из ТРГ (площадь рабочей поверхности электрода из ТРГ составляла 0,5 см²) и спектрального графита (площадь рабочей поверхности электрода составляла 1,22 см²). Кюветы разделяли протонселективной мембраной МФ-4СК («Пластполимер», Санкт-Петербург, Россия), являющейся аналогом мембраны Nafion 117 в протонированной форме. В качестве фонового раствора использовали 30 мМ натрий-фосфатный буфер рН = 6,0, а в качестве медиаторов — 2,6-дихлорофенолиндофенол (ДХФИФ) в анодной ячейке и гексацианоферрат(III) калия (ГЦФ) в катодной ячейке. В качестве субстрата для окисления клетками *G. oxydans* использовалась глюкоза. Для измерений применяли гальванопотенциостат (IPSCMicro, «Кронас», РФ). Регистрацию ответов на добавку субстрата в измерительную ячейку начинали после установления стационарного состояния электрода, характеризующегося неизменным значением тока. Регистрацию циклических вольтамперных характеристик (ЦВА) проводили при скорости развертки 3 мВ/с.

В качестве материала анода микробного биотопливного элемента был исследован терморасширенный графит. На электрод на основе ТРГ иммобилизовали клетки *G. oxydans* методом физической адсорбции и

включением в гель ПВС-N-ВП. Для оценки влияния ТРГ на электрохимические свойства БТЭ использовали метод циклической вольтамперометрии. На основе ЦВА рассчитывали мощностные характеристики (зависимости удельной мощности от напряжения).

Для сравнения выполняли иммобилизацию *G. oxydans* в гель ПВС-N-ВП на стержнях спектрального графита, часто используемого в качестве материала анода БТЭ [3].

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлены мощностные характеристики электродов из ТРГ и спектрального графита на основе иммобилизованных в ПВС-N-ВП и методом физической адсорбции клеток *G. oxydans*. Мощность БТЭ рассчитывали на основе ЦВА, полученной при внесении в катодную ячейку ГЦФ, и ДХФИФ и глюкозы — в анодную ячейку. Максимальная удельная мощность электрода из ТРГ при включении клеток в гель ПВС составляла 4,6 мкВт/см², при иммобилизации методом адсорбции клеток — 6,0 мкВт/см². Для электрода из спектрального графита и иммобилизованных в ПВС клеток удельная мощность была равна 2,5 мкВт/см².

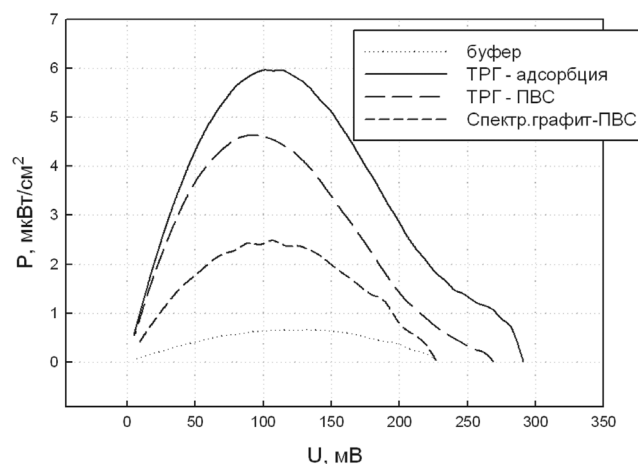


Рис. 1. Удельная мощность электродов из ТРГ и спектрального графита

Для оценки эффективности способов иммобилизации и сравнения носителей методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в электронном микроскопе JSM-6510 LV (JEOL, Япония) были получены фотографии электродов с иммобилизованными клетками. В качестве примера на рисунках 2 и 3 приведены СЭМ-фотографии электродов, изготовленных из ТРГ, с клетками *G. oxydans*, иммобилизованными методом

физической адсорбции (рис. 2), и при включении клеток в гель ПВС-N-ВП (рис. 3).

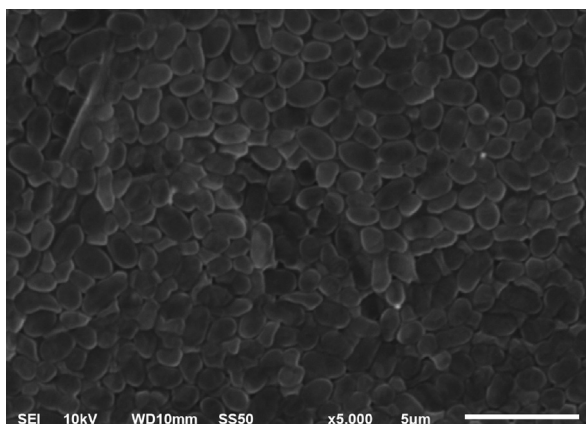


Рис. 2. Поверхность анода. Имобилизованные на поверхности электрода из ТРГ методом физической адсорбции клетки *G. oxydans*. СЭМ, ×5000

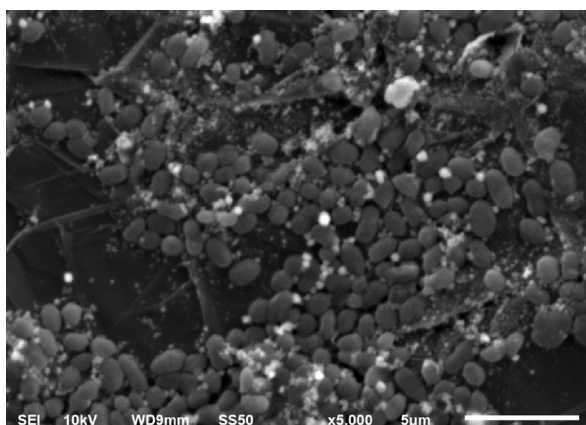


Рис. 3. Поверхность анода. Имобилизованные на поверхности электрода из ТРГ методом включения в гель ПВС-N-ВП клетки *G. oxydans*. СЭМ, ×5000

Необходимо отметить, что во всех случаях клетки на поверхности образуют монослой. Анализ СЭМ-фотографий электрода с клетками, включенными в гель ПВС-N-ВП, показал, что площадь покрытия электрода составляет $\approx 64\%$. Для электрода с иммобилизованными клетками методом адсорбции площадь покрытия составляет $\approx 81\%$. Это, вероятно, объясняет максимальное значение удельной мощности для данного носителя и способа иммобилизации.

На рисунке 4 в качестве примера приведена электронно-микроскопическая фотография электрода из спектрального графита с иммобилизованными в ПВС-N-ВП клетками. Наименьшее содержание клеток на электроде из спектрографита по сравнению с электродами из ТРГ, возможно, объясняет самое низкое значение удельной мощности для данного электрода.

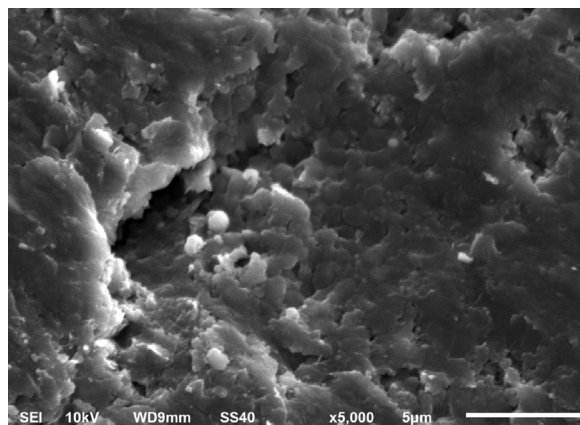


Рис. 4. Поверхность анода. Имобилизованные на поверхности электрода из спектрального графита методом включения в гель ПВС-N-ВП клетки *G. oxydans*. СЭМ, ×5000

Выполненная работа носит пилотный характер и пока для широкого обсуждения полученных фактов материала недостаточно. Однако нужно подчеркнуть, что результаты подтверждают гипотезу исследования и служат основой для дальнейших разработок этой темы.

Заключение

В заключение еще раз отметим, что в качестве материала анода микробного биотопливного элемента был исследован терморасширенный графит и спектральный графит. Клетки *G. oxydans* иммобилизовали двумя методами на полученные электроды: методом физической адсорбции и включением в гель ПВС-N-ВП. Для характеристики электродов регистрировали вольтамперные характеристики, на основе которых рассчитывали мощность электродов.

Результаты резюмируются следующим образом. Максимальная удельная мощность БТЭ получена при использовании в качестве биоанода электрода на основе ТРГ при иммобилизации клеток методом физической адсорбции ($6,0 \text{ мкВт/см}^2$). При использовании метода включения в гель ПВС-N-ВП удельная мощность была в 1,3 раза меньше. Наименьшая удельная мощность была показана для БТЭ при использовании биоанода на основе спектрального графита и иммобилизованных в ПВС-N-ВП клеток.

Работа была поддержана грантами 13-07-12052, ОФИ_М_2013 «Исследование и создание нового класса источников питания для биосенсоров на основе биотопливного элемента, содержащего контроллер преобразования электрической энергии».

Литература

1. Алферов В.А., Филатова Н.М., Асулян Л.Д., Блохин И.В., Горячева А.А. Получение стабильного рецепторного элемента биосенсора, иммобилизацией бактериальных клеток *Gluconobacter oxydans* в пленку из поливинилового спирта, модифицированного N-винилпирролидоном // Изв. ТулГУ. Естественные науки. Тула. — 2011. — Вып. 1. — С. 210–219.
2. Демаков В.А., Максимова Ю.Г., Максимов А.Ю. Иммобилизация клеток микроорганизмов // Прикл. биохим. микробиол. — 2008. — № 2. — С. 30–31.
3. Минайчева П.Р., Алферов С.В., Арляпов В.А., Алферов В.А., Решетилов А.Н. Иммобилизация бактерий *Gluconobacter oxydans* на аноде биотопливного элемента // Вода: химия и экология. — 2013. — № 2. — С. 44–51.
4. <http://www.dpva.info/Guide/GuideMaterials/SealsAndHermetics/GraphiteAsbestosetc/TRG/TRGProperties/>
5. Yeni F., Odaci D., Timur S. Use of eggshell membrane as an immobilization platform in microbial sensing // Analytical Letters. — 2008. — Vol. 41. — No. 14. — P. 2743–2758.

MICROBIAL BIOFUEL CELL ANODE BASED ON THERMALLY EXPANDED GRAPHITE

A.E. KITOVA¹, A.S. SAMOYLOVA², A.V. MACHULIN¹, L.D. ASULYAN²,
V.V. KOLESOV³, R.G. VASILOV⁴, A.N. RESHETILOV^{1,4}

¹ G.K. Scriabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms RAS, Pushchino;

² Tula State University, Tula;

³ V.A. Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics RAS,

⁴ National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow

Thermally expanded graphite and spectral graphite were investigated as the materials of the anode. *Gluconobacter oxydans* bacterial cells immobilized on the surface the anode were used as biocatalyst. A comparison of the power characteristics of biofuel cell was made for the thermally expanded graphite or spectral graphite anode with immobilized by adsorption or by entrapment in the polyvinylalcohol gel cells. The highest value of electrical power ($\approx 6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ at 100 mV, inner resistance of biofuel cells is near 1.7 kOhm) was obtained when microbial cells were immobilized by adsorption to the thermally expanded graphite.

Keywords: microbial biofuel cell, thermally expanded graphite, spectral graphite, *Gluconobacter oxydans*.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ, СВОЙСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЗОТИСТЫХ И УГЛЕВОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕЙ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ АСЦИДИЙ

Т.Н. ПИВНЕНКО^{1*}, П.А. ЗАДОРЖНЫЙ², В.А. ЗАРУБКИНА¹, Л.А. ИВАНУШКО³

¹ Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,

² Институт химии ДВО РАН,

³ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
им. Г.П. Сомова СО РАМН, Владивосток

Исследовано содержание азотистых компонентов, белков и углеводов в тканях и органах двух видов асцидий *Halocynthia aurantium* и *Styella clava*. Показано преобладание таурина и высокое содержание пролина во всех исследованных образцах. Состав протеиногенных аминокислот в тканях асцидий в целом сходен с составом тканей других животных, за исключением гемолимфы и туники, что связано с их функциональной ролью. Полученные данные могут быть использованы как биохимический критерий идентификации органов и тканей асцидий и продуктов на их основе. В составе туники асцидии обнаружены целлюлоза и хитин. Методом ферментативного гидролиза выделена фракция водорастворимых углеводов. Показана высокая степень сульфатирования гексозаминов. Проведена ИК-спектроскопия полученных образцов, показавшая наличие пиков, характерных для хитозана и сульфогрупп. Исследована иммуностимулирующая и антиоксидантная активность.

Ключевые слова: аминокислоты, каротинопротеины, сульфатированные углеводы, хитин, целлюлоза, иммуномодулирующая и антиоксидантная активность, асцидии.

Введение

Исследование биологически активных веществ (БАВ), входящих в состав морских животных, в течение последних лет остается на пике интересов биохимиков, фармакологов и исследователей смежных специальностей. Обнаружение компонентов с новыми качественными характеристиками, изучение их структуры и функций позволяют выявить новые виды природных соединений, оценить их физиологическую активность [2, 5, 6]. Морская биота отличается большим таксономическим разнообразием, при этом большая часть видов является филогенетически значительно более древней, чем обитатели суши. Среди подобных малоизученных видов можно выде-

лить животных, относящихся к подтипу оболочников (*Tunicata*) — примитивных хордовых, занимающих «промежуточное положение» между позвоночными и беспозвоночными. Наибольшее количество их видов принадлежит к классу асцидий (*Ascidia*), образующих одиночные и колониальные формы. Для отдельных видов выявлены специфические, характерные только для них компоненты из разряда пептидов [18], каротиноидов [4, 13, 20], алкалоидов [11], углеводов [12, 14]. Большинство из них характеризуется высокой биологической активностью и может быть использовано при создании функциональных продуктов и препаратов. В дальневосточных морях обитает несколько видов асцидий, из которых только один вид — *Halocynthia aurantium* — имеет промысловое значение и разрешен для промышленного рыболовства. Состав биологически активных компонентов различных тканей этого вида изучен лишь частично, для другого распространенного вида — *Styella clava* — сведения еще более ограничены.

Целью данной работы был сравнительный анализ состава аминокислот и их производных, а также некоторых белков и углеводов в органах и тканях асцидий *H. aurantium* и *S. clava*, исследование свойств структурных углеводных комплексов и определение направлений практического применения.

© 2014 г. Пивненко Т.Н., Задоржный П.А., Зарубкина В.А., Иванушко Л.А.

* **Автор для переписки:**

Пивненко Татьяна Николаевна,

доктор биологических наук,

Научно-инновационный центр «Морские биотехнологии»,

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,

690087 Владивосток, ул. Луговая, 52а,

E-mail: tnpivnenko@mail.ru

Материалы и методы

Асцидии *H. aurantium* (одиночный вид) и *S. clava* (колониальный вид) были выловлены траловым или вололазным способом в заливе Петра Великого (Японское море). Свежевыловленную *H. aurantium* разделяли, заготавливая отдельно мантию, тунику, пищеварительную железу, гонады. У *S. clava* отделяли тунику от суммы внутренних органов. Образцы замораживали и хранили при температуре $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Общее содержание белка определяли по количеству азота, образующегося при сжигании пробы в HCl, по методу Кьельдаля на приборе Kjeltac 2300 (Foss, Швеция). Состав аминокислот определяли на аминокислотном анализаторе «Hitachi L-8800» (Япония).

Содержание хитина определяли согласно ГОСТ 7636-85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа». Для этого выделяли хитин последовательной обработкой сырья ацетоном, муравьиной кислотой и гидроксидом натрия. В сухом осадке определяли массовую долю азота по методу Кьельдаля. Количество хитина (X) вычисляли по формуле: $X(\%) = N(\%) \times 14,5$, где: N — массовая доля азота; 14,5 — коэффициент пересчета азота в хитин.

Определение содержания целлюлозы проводили по методу Геннеберга и Штомана [1], основанному на последовательной обработке испытуемой пробы растворами кислоты и щелочи, озолении и количественном определении органического остатка весовым методом. Содержание клетчатки выражали в виде массовой доли в % от сухого вещества.

Содержание суммы гексозаминов определяли колориметрическим методом Эльсона и Моргана [16] после гидролиза образцов в 4 N HCl в течение 4 часов при $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для расчета содержания аминокислот использовали стандартные растворы солянокислого глюкозамина.

Содержание сульфат-ионов определяли турбидиметрическим методом после гидролиза образцов в 4 N HCl, осаждения сульфат-ионов BaCl_2 и регистрации оптической плотности раствора при 405 нм по степени его помутнения. Для расчета содержания сульфат-ионов использовали стандартные растворы сернокислого калия.

Содержание нейтральных сахаров определяли фенол-сернокислотным методом [15]. В качестве стандарта использовали D-глюкозу.

Определение моносахаридного состава проводили после гидролиза полисахаридов с помощью 2 M трифторуксусной кислоты (ТФУ) при $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение

8 часов на анализаторе Biotronik IC-5000 (Германия) с колонкой ISA-09/S2804. Элюцию проводили калий-боратным буфером, для обнаружения использовали метод с бидинхониновой кислотой.

ИК-спектры полисахаридов регистрировали для КВг таблеток исследуемого образца на спектрометре Vector (Bruker) 22 (Германия).

Выделение фракции растворимых углеводов проводили согласно методу, предложенному Anno [12]. Образец выдерживали 1 час в водной среде при $96\text{--}98\text{ }^{\circ}\text{C}$. После охлаждения добавляли ферментный препарат Protamex (Novozymes, Дания). Ферментный гидролиз проводили $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение двух дней. Суспензию центрифугировали при 2000 об./мин. К супернатанту добавляли охлажденный этанол. Осадок лиофилизировали.

При оценке иммуностимулирующей активности использовали НСТ-тест (восстановление нитросинего тетразолия), который отражает бактерицидную активность фагоцитов. Принцип теста состоит в том, что при активации фагоцитирующих клеток происходит восстановление растворимого бесцветного тетразолия нитросинего в диформазан, который распределяется в цитоплазме или на поверхности фагоцитов в виде гранул, окрашенных в темно-синий цвет. Этот тест отражает степень активации кислородозависимых механизмов бактерицидной активности фагоцитирующих клеток [9]. Испытуемые препараты вводили опытной группе животных после их разведения в 25 мкл физиологического раствора. Контрольной группе животных вводили физиологический раствор.

Измерение фагоцитарной активности нейтрофилов выполняли микроскопически путем подсчета клеток, участвующих в фагоцитозе (ФП, %), и определения среднего числа микроорганизмов, поглощенных одним фагоцитом (ФЧ — фагоцитарное число).

Общую антиокислительную активность плазмы крови оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) [3].

Результаты и обсуждение

Асцидии имеют цилиндрическое или яйцевидное тело с корневым выростом — подошвой. Средняя масса одного экземпляра асцидии *Halocynthia aurantium* составила 210 г. Тело асцидии заключено в особую кожистую оболочку — тунику (в среднем 15% от массы тела), под которой залегает стенка тела — мантия (6,5%), состоящая из соединительной ткани с мышечными волокнами. Внутри мантии находятся пищеварительная железа,

желудок, гонады и другие органы (в сумме около 23%). Наиболее высокую относительную массу у асцидий имеет внутриволокнистая жидкость — гемолимфа (45%). Средняя масса одного экземпляра асцидии *Styella clava* — 15,4 г, доля туники — 16,6%, остальное — внутренние органы, включая желудок и внутриволокнистую жидкость.

Общий химический состав органов и тканей асцидий представлен в таблице 1. Все ткани отличаются низким содержанием белка. Наибольшее количество белка содержится в мантии — около 10%. Количество липидов еще меньше, их доля в гонадах, где их более всего, — 2%. Наиболее высоко содержание углеводов в тунике — 12%, минеральных веществ — в мантии и пищеварительной железе: около 3,5%. Туника асцидии пурпурной может служить источником каротиноидов, которые и были нами ранее выделены с помощью экстракции этанолом и реэкстракции растительным маслом. Состав каротиноидов был изучен детально и большинство из них идентифицировано с установлением структуры. В том числе, преобладающие — атаксантин, аллоксантин, β,β -каротин-2,2'-диол и гидроксизехиненон. Показана высокая биологическая активность — антиоксидантная, мембранотропная и иммуномодулирующая. В настоящее время препарат используется как БАД к пище [4]. Полученный после экстракции осадок характеризуется большим количеством углеводов (см. табл. 1), состав которых представлен в настоящей работе.

Количество свободных аминокислот (САК) и родственных им азотистых соединений составило от 130 в мантии и тунике до 3300 мг в гемолимфе в расчете на

100 г исходной ткани. Общее количество идентифицированных соединений — 38 (табл. 2). У асцидий САК преобладают в гемолимфе (внутриволокнистой жидкости, выполняющей функции крови). В этом органе их количество больше, чем во внешней оболочке, мышечной ткани, внутренних органах, в 8–25 раз. Во всех органах *H. aurantium* значительно преобладает таурин, в гемолимфе его абсолютное содержание особенно велико; при этом относительное содержание составляет 37% от общего количества САК, в тунике (внешней оболочке) — 47, мантии (внутреннем мускульном мешке) — 33, пищеварительной железе — 43, гонадах — 39. Для колониальной асцидии *Styella clava* имеет место следующее распределение: во внешней оболочке содержание таурина — 33%, в суммарной пробе внутренних органов — 29%. Далее по убыванию величин для обоих видов идут глицин, лейцин, аланин и пролин. В свободном состоянии присутствуют также оксализин и оксипролин — аминокислоты, характерные для коллагена. У асцидий так же, как и других морских организмов, наблюдается многообразие аминокислот и родственных им соединений, не входящих в состав белка, таких как α -, β - и γ -аминомасляные кислоты, фосфосерин, метилгистидины, аминокислоты и др. В большинстве случаев их можно рассматривать как промежуточные продукты обмена веществ. Интерес представляют гистинсодержащие дипептиды — ансерин и карнозин — компоненты с высокой антиоксидантной активностью. У асцидий во всех органах преобладает ансерин.

Таблица 1

Общий химический состав асцидий, % от общей массы, среднее \pm SD

Ткани и органы	Вода	Белок	Липиды (каротиноиды, мг/100 г ткани)	Углеводы	Минеральные вещества
<i>H. aurantium</i>					
Мантия	85,37 \pm 1,71	10,09 \pm 0,21	0,55 \pm 0,01 (16,70 \pm 0,09)	0,62 \pm 0,02	3,36 \pm 0,15
Туника	79,72 \pm 1,96	7,91 \pm 0,14	0,14 \pm 0,00 (35,05 \pm 0,23)	11,70 \pm 0,09	0,52 \pm 0,10
Туника после обработки этанолом	13,0 \pm 0,50	1,9 \pm 0,11	0	79,0 \pm 0,17	4,4 \pm 0,12
Пищеварительная железа	89,99 \pm 2,07	4,93 \pm 0,32	0,89 \pm 0,02 (10,80 \pm 0,11)	0,72 \pm 0,10	3,47 \pm 0,23
Гонады	87,33 \pm 2,14	8,72 \pm 0,26	1,96 \pm 0,01 (3,25 \pm 0,21)	0,83 \pm 0,07	1,16 \pm 0,11
Гемолимфа	95,99 \pm 1,01	2,77 \pm 0,53	—	—	0,32 \pm 0,01
<i>S. clava</i>					
Туника	78,68 \pm 0,92	6,83 \pm 0,21	0,12 \pm 0,09 (3,25 \pm 0,08)	13,70 \pm 0,13	0,92 \pm 0,14
Совокупность внутренних органов	88,67 \pm 1,17	5,64 \pm 0,28	1,59 \pm 0,22 (1,15 \pm 0,04)	0,95 \pm 0,18	2,09 \pm 0,23

Таблица 2

**Содержание свободных аминокислот и родственных им соединений в тканях асцидий
(мг/100 г сырой ткани \pm SD)**

Аминокислота	<i>Halocynthia aurantium</i>					<i>Styella clava</i>	
	Туника	Мантия	Пищеварительная железа	Гонады	Гемолимфа	Туника	Сумма органов
Фосфосерин	0,97 \pm 0,06	0,79 \pm 0,16	1,77 \pm 0,07	1,01 \pm 0,00	—	10,19 \pm 0,86	3,20 \pm 0,21
Таурин	68,40 \pm 1,00	42,9 \pm 5,27	178,87 \pm 3,57	63,57 \pm 3,70	1235,82 \pm 25,14	79,49 \pm 0,75	38,91 \pm 0,96
Фосфоэтаноламин	0,19 \pm 0,00	0,06 \pm 0,00	—	4,18 \pm 0,15	—	—	—
Асп	1,11 \pm 0,14	1,91 \pm 0,37	4,82 \pm 0,40	0,96 \pm 0,03	6,67 \pm 0,02	6,19 \pm 0,32	3,06 \pm 0,22
Тре	3,43 \pm 0,13	4,43 \pm 1,08	9,04 \pm 0,87	4,25 \pm 0,15	94,20 \pm 1,52	8,41 \pm 0,41	5,17 \pm 0,28
Сер	3,01 \pm 0,20	4,71 \pm 1,09	8,32 \pm 0,73	2,85 \pm 0,08	69,93 \pm 1,72	10,32 \pm 0,52	5,93 \pm 0,49
Глу	6,47 \pm 0,44	8,78 \pm 1,62	20,43 \pm 1,85	9,20 \pm 3,27	51,06 \pm 0,46	32,51 \pm 1,09	20,28 \pm 1,00
Саркозин	0,10 \pm 0,04	—	1,63 \pm 0,10	0,23 \pm 0,03	—	0,67 \pm 0,03	0,29 \pm 0,03
α -Аминоадипиновая кислота	0,18 \pm 0,03	0,10 \pm 0,04	1,77 \pm 0,12	0,39 \pm 0,01	5,88 \pm 0,22	0,72 \pm 0,10	0,47 \pm 0,10
Гли	14,88 \pm 0,66	10,71 \pm 2,31	19,51 \pm 1,58	18,12 \pm 0,57	308,96 \pm 4,92	28,49 \pm 0,81	14,61 \pm 0,61
Ала	8,04 \pm 0,18	6,44 \pm 1,56	16,97 \pm 1,49	10,56 \pm 0,31	226,78 \pm 5,06	18,87 \pm 0,67	9,47 \pm 0,43
Цитруллин	0,11 \pm 0,01	1,94 \pm 0,41	0,80 \pm 0,06	0,66 \pm 0,09	0,87 \pm 0,06	3,86 \pm 0,46	3,72 \pm 0,19
α -Аминомасляная кислота	0,10 \pm 0,01	0,02 \pm 0,03	0,28 \pm 0,07	0,18 \pm 0,01	3,62 \pm 0,08	—	—
Вал	3,68 \pm 0,09	4,51 \pm 1,32	13,43 \pm 1,03	3,29 \pm 0,038	110,68 \pm 4,02	6,54 \pm 0,28	3,90 \pm 0,25
Цис	0,14 \pm 0,07	0,08 \pm 0,03	0,86 \pm 0,05	1,94 \pm 0,08	4,23 \pm 0,27	0,30 \pm 0,01	0,21 \pm 0,01
Мет	1,23 \pm 0,02	1,97 \pm 0,63	6,34 \pm 0,42	1,53 \pm 0,06	47,01 \pm 3,22	—	—
Цистатионин	0,51 \pm 0,01	0,46 \pm 0,02	2,31 \pm 0,09	1,13 \pm 0,01	10,99 \pm 0,13	—	—
Иле	2,80 \pm 0,23	3,70 \pm 1,31	11,78 \pm 1,01	2,56 \pm 0,04	91,32 \pm 7,22	4,72 \pm 0,17	2,98 \pm 0,16
Лей	4,31 \pm 0,15	5,48 \pm 2,16	18,23 \pm 1,63	3,96 \pm 0,01	134,48 \pm 13,35	0,06 \pm 0,02	2,61 \pm 0,13
Тир	0,10 \pm 0,02	1,71 \pm 0,55	11,97 \pm 0,74	2,75 \pm 0,06	54,99 \pm 3,87	0,31 \pm 0,02	1,74 \pm 0,12
Фен	2,18 \pm 0,10	3,91 \pm 1,65	11,69 \pm 0,82	2,93 \pm 0,03	69,05 \pm 17,84	0,46 \pm 0,05	1,96 \pm 0,09
β -аланин	1,31 \pm 0,02	0,90 \pm 0,15	0,89 \pm 0,14	2,18 \pm 0,09	31,17 \pm 0,57	3,54 \pm 0,18	1,72 \pm 0,15
β -Аминоизомасляная кислота	0,41 \pm 0,01	0,25 \pm 0,05	0,38 \pm 0,08	0,44 \pm 0,02	8,44 \pm 0,17	0,48 \pm 0,01	0,29 \pm 0,01
γ -Аминоизомасляная кислота	0,16 \pm 0,01	0,10 \pm 0,02	0,37 \pm 0,04	0,16 \pm 0,00	4,66 \pm 0,36	1,37 \pm 0,06	0,55 \pm 0,04
Трп	0,62 \pm 0,03	0,97 \pm 0,49	2,43 \pm 0,18	0,76 \pm 0,03	18,12 \pm 2,71	0,13 \pm 0,01	0,40 \pm 0,02
Этаноламин	0,72 \pm 0,01	1,05 \pm 0,36	1,96 \pm 0,15	0,55 \pm 0,07	21,19 \pm 0,85	1,38 \pm 0,15	0,54 \pm 0,14
Гидроксилизин	0,54 \pm 0,63	0,31 \pm 0,02	1,09 \pm 0,36	0,33 \pm 0,01	3,64 \pm 2,19	0,11 \pm 0,01	0,24 \pm 0,02
Орнитин	0,33 \pm 0,04	0,44 \pm 0,07	1,27 \pm 0,56	1,22 \pm 0,02	28,87 \pm 1,09	0,57 \pm 0,05	0,76 \pm 0,06
Lys	2,32 \pm 0,14	6,15 \pm 1,27	16,26 \pm 1,60	6,58 \pm 0,11	129,82 \pm 2,32	0,14 \pm 0,01	0,74 \pm 0,03
3-метилгистидин	—	0,07 \pm 0,03	0,41 \pm 0,06	0,07 \pm 0,04	1,10 \pm 0,48	0,26 \pm 0,03	0,14 \pm 0,04
Ансерин	1,68 \pm 0,05	2,02 \pm 0,03	13,98 \pm 5,64	2,74 \pm 0,55	59,24 \pm 5,09	2,07 \pm 0,21	1,37 \pm 0,16
Карнозин	0,65 \pm 0,05	0,67 \pm 0,06	4,11 \pm 0,71	0,80 \pm 0,11	17,60 \pm 0,84	0,47 \pm 0,09	0,50 \pm 0,09
Арг	1,92 \pm 0,06	3,73 \pm 0,85	13,25 \pm 1,12	2,28 \pm 0,02	97,08 \pm 2,54	1,01 \pm 0,13	2,43 \pm 0,13
Опр	1,26 \pm 0,02	0,62 \pm 0,14	1,59 \pm 0,12	2,66 \pm 0,10	25,31 \pm 0,46	0,24 \pm 0,01	—
Про	10,95 \pm 0,30	8,14 \pm 1,92	10,95 \pm 0,80	5,96 \pm 0,12	331,33 \pm 4,84	15,75 \pm 0,71	8,08 \pm 0,67
Сумма	145,92	131,47	412,83	164,08	3341,20	241,49	137,90

Известно, что у морских организмов вообще и у беспозвоночных, особенно, общее содержание свободных аминокислот и родственных соединений намного выше, чем у наземных и пресноводных, что объясняется ролью этих компонентов в поддержании осмотического равновесия [22]. Морские беспозвоночные с легкостью усваивают из окружающей среды и выделяют в нее аминокислоты и другие органические соединения непосредственно через поверхность тела. Аминокислоты могут накапливаться в десятикратно больших количествах против их содержания в окружающей среде, что тесно связано с сопутствующим транспортом ионов натрия и позволяет не только регулировать клеточный объем, но и запасать питательные вещества [22, 24]. Регуляция осмотического давления осуществляется с помощью неорганических ионов приблизительно на 50%, остальное обеспечивают органические соединения: таурин, глицин, пролин и бетаин. У асцидий, в отличие от беспозвоночных, свободные аминокислоты преобладают в гемолимфе.

Характерной чертой некоторых видов асцидий является наличие больших количеств каротиноидов в составе туники. У морских беспозвоночных кетокаротиноиды обычно присутствуют в виде стабильных каротинопротеиновых комплексов. В этих комплексах каротиноиды в стехиометрических соотношениях связаны с липопротеидами или гликопротеидами [23, 25]. В отдельных случаях каротинопротеины могут прочно связываться со структурным материалом наружных покровов тела — хитином или карбонатом кальция. Они способны образовывать ковалентные связи с остатками глутаминовой и аспарагиновой кислот или ионные — с ароматическими аминокислотами. В мантии присутствуют коллаген и аналоги мышечных белков, в гемолимфе — транспортные белки.

Основными протеиногенными аминокислотами во всех органах и тканях асцидий являются глутаминовая и аспарагиновая кислоты. Особенно велико их содержание в тунике *H. aurantium*, где они могут входить в состав апопротеинов каротинопротеиновых комплексов. Туника колониальной асцидии *S. clava* содержит значительно меньше каротиноидов, при этом содержание вышеназванных аминокислот соответственно меньше. Далее по мере убывания можно отметить лейцин, лизин и пролин. Только в белках гемолимфы содержание пролина очень велико — на одном уровне с аспарагиновой кислотой. Также в белках всех органов высоко содержание лизина и аргинина.

Если применить характеристики аминокислотного состава, предложенные П.Ф. Загальским и соавторами

[25], использовавшими процентное соотношение различных групп аминокислот, то можно увидеть значительное сходство этих характеристик для белков туники асцидий и карапакса лобстера *Homarus gammarus* (табл. 3). Как у лобстера, так и у асцидий преобладают полярные аминокислоты, практически на одном уровне находятся заряженные аминокислоты. Еще более близки величины соотношений полярных/неполярных и основных/кислых аминокислот.

Таблица 3

Сравнительная характеристика аминокислотного состава белков туники асцидий и апопротеинов карапакса лобстера, % к сумме аминокислот

Вид	НПА а	ПА б	ПА:НПА	ЗА в	ОА:КА г
<i>H. aurantium</i> (туника)	18,6	53,2	2,8	39,5	0,60
<i>S. clava</i> (туника)	19,5	54,0	2,8	40,2	0,49
<i>H. gammarus</i> (карапакс)*	23,5	49,5	2,3	44,8	0,49

Примечание: «а» неполярные аминокислоты — вал, иле, лей, фен, мет; «б» полярные аминокислоты — асп, тре, сер, глу, лиз, гис, арг; «в» заряженные аминокислоты — асп, глу, лиз, арг; «г» основные /кислые аминокислоты — арг+лиз/глу+асп; * Quarmby B. et al., 1977 [23]

Для исследования углеводных составляющих использовали тунику асцидии пурпурной, а именно: сухой порошок, полученный после ее обезжиривания и обезвоживания с помощью этанола. Химический состав этого порошка представлен в таблице 1. Содержание углеводов в нем составило 79%.

Ранее было установлено, что одним из основных структурообразующих компонентов в тунике является целлюлозоподобная составляющая, связанная с сульфатированными хитиноподобными полисахаридами [7, 14, 19, 21]. Подобный компонентный состав присущ клеточной стенке мицелия высших грибов, в которой на долю целлюлозы приходится 9%, а хитина 5% от общей массы [10]. Известно, что эти полисахариды образуют хитин-глюкановый комплекс (ХГК), в котором углеводы связаны с белками ионными и водородными связями, и эти комплексы являются более прочными, чем природные белковые комплексы хитина в кутикуле беспозвоночных [8]. Поэтому при исследовании углеводных компонентов туники *H. aurantium* мы изучали их хитиновую и целлюлозную составляющие, а также водорастворимую фракцию полисахаридов. Состав этих компонентов представлен в таблице 4. Очевидно значительное преобладание глюканового компонента.

Если сравнивать приведенные результаты с данными, полученными для мицелия различных видов грибов, которые, в свою очередь, значительно варьируют, можно отметить противоположное соотношение содержания целлюлозы и хитина с преобладанием последнего.

Таблица 4
Состав углеводных компонентов в обезжиренной тунике асцидии *Halocynthia aurantium*, % общей массы

Компонент	Содержание
Целлюлоза	43,3±1,6
Хитин	7,9±0,2
Водорастворимые углеводы	4,5±0,2

Для выделения водорастворимых углеводов из туники асцидии пурпурной использовали методику, включающую в себя гидролиз ткани протеолитическими ферментами с последующим осаждением полисахаридов этанолом. В работах авторов, изучавших тунику асцидий других видов (*H. roretzi* и *S. plicata*), показано, что компонентный состав фракции, полученной таким же способом, представлен в основном сульфатированными гексозаминами [12].

В таблице 5 дана характеристика углеводсодержащих фракций, выделенных из туники асцидии пурпурной. Идентифицированная в качестве основного моносахарида галактоза присутствует в значимых количествах в водорастворимой фракции — 27% и в исходном сырье — 57%. Количество гексозаминов наиболее велико в нерастворимом осадке, где преобладает галактозамин. В то же время в обезжиренной тунике и водорастворимой фракции значительно больше глюкозаминов. Важным показателем, характеризующим степень сульфатирования, является молярное соотношение углеводов (в данном случае гексозаминов) и сульфат-ионов, которое составило для туники — 0,6, для нерастворимой фракции — 2,5, для растворимой фракции — 0,4.

Сульфатированные полисахариды широко распространены в природе. Они присутствуют в морских водорослях — это карагинаны и фукоиданы, которые в основном состоят из сульфатированной галактозы и фукозы, соответственно. Степень сульфатирования фукоидана, выделенного из *Laminaria japonica* и *Fucus evanescens*, по отношению фукозы к SO_4^{2-} составило 1 и 1,25, соответственно [17].

Таблица 5

Содержание моносахаров и сульфат-ионов в различных фракциях туники асцидии *Halocynthia aurantium*

Исследуемый материал	Содержание, % от массы фракции		Состав моносахаров, % от суммы			
	Гексозамины	SO_4^{2-}	GlcNH ₂	GalNH ₂	Glc	Gal
Обезжиренная туника	4,7	3,7	47	18	7	8
Водорастворимая фракция	12,5	13,0	45	15	—	27
Нерастворимый осадок	21,5	3,42	43	57	—	—

В животном царстве глюкозаминогликаны (например, кератансульфаты линейной структуры), мономером которых является сульфатированное дисахаридное звено, содержатся в хрящах и роговице млекопитающих [17]. Сульфатированные гликаны туники асцидий по химическому составу отличны от всех гексозаминогликанов, описанных для животных тканей. В отличие от последних, данные углеводы асцидий являются высоко-разветвленными. Вероятно, сульфатированные гликаны в тунике играют такую же важную структурную роль, как и глюкозаминогликаны в соединительной ткани позвоночных [10].

Исследования биологической активности продемонстрировали, что сульфатированные полисахариды обеспечивают антикоагуляционный эффект и ингибирование ангиотензин-превращающего фермента [21]. При изучении сорбции жиров этими полимерами получены сопоставимые результаты с хитином и хитозаном ракообразных.

Для подтверждения присутствия сульфатированных гексозаминов в водорастворимой углеводной фракции туники асцидии пурпурной проводили ИК-спектроскопию, в результате которой в исследуемом образце показано наличие специфических для хитозана пиков в области 1384 cm^{-1} и более сглаженной структуры спектра при 1250 cm^{-1} (рис. 1). Аналогичные пики были ранее выявлены для хитозана, полученного из беспозвоночных и грибов [17]. В ИК-спектрах исследуемого образца наблюдали характерное поглощение при 1590–1750 cm^{-1} (сопряженные C=O группы, валентные колебания), полоса поглощения при 1650 cm^{-1} указывает на валентные колебания C=O в амидах. В областях поглощения 1249 cm^{-1} (S=O валентные колебания) и 810 cm^{-1} (C-O-S деформационные колебания), которые

относятся к области поглощения эфиров сульфата, наблюдались характеристические полосы. Области поглощения 1249 см^{-1} и 810 см^{-1} свидетельствуют о содержании сульфатных групп в образце.

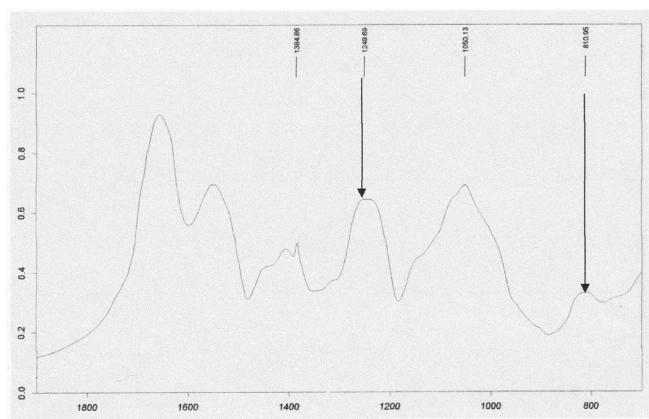


Рис. 1. ИК-спектр водорастворимой фракции углеводов туники асцидии *Halocynthia aurantium*

Для оценки иммуностропной активности испытывали препараты тканей на фагоцитарную и бактерицидную активности нейтрофилов (по отношению к *Staphylococcus aureus* штамм 209) перитонеальной полости мышей, а также антиоксидантную активность (АОА) сыворотки крови мышей. При исследовании бактерицидной активности нейтрофилов был установ-

лен эффект стимуляции для всех препаратов (табл. 6). Наиболее сильным он был при введении животным гемолимфы, в составе которой преобладают аминокислоты и белки, определяющие иммунитет асцидии. Существенная разница в дозировках препаратов (в 100 раз) во всех экспериментах не выявила прямой зависимости от дозы. Все препараты также усиливали фагоцитарную активность. В этом случае меньшая концентрация обеспечивала больший рост количества клеток, участвующих в фагоцитозе на 22,6–29,7% по сравнению с контролем (см. табл. 6). Такой же положительный результат, но при больших дозировках, просматривается в отношении показателя ФЧ. Возможно, в данном случае концентрация не является определяющим фактором, а БАВ действуют на разные мишени, например, экспрессию генов или гашение свободных радикалов, образующихся в результате уничтожения фагоцитами патогенов.

Общую антиокислительную активность плазмы крови оценивали по накоплению МДА — конечного продукта перекисного окисления липидов в модельной системе желточных липопропротеидов. Все тестируемые препараты проявляли выраженное антиоксидантное действие и увеличивали указанные свойства крови в 1,7–2,3 раза по сравнению с контролем при соблюдении дозозависимости (табл. 7).

Таблица 6

Влияние тканей *H. aurantium* на бактерицидную и фагоцитарную активности нейтрофилов перитонеальной полости мышей, среднее \pm SD

Тест	Контроль	Экстракт туники		Мантия		Гемолимфа	
		50 мкл	0,5 мкл	10 мг	100 мкг	2 мг	20 мкг
НСТ-тест ОП $\times 10^3$	93,4 \pm 1,2	107,8 \pm 3,9	104,1 \pm 1,5	148,8 \pm 5,4	143,3 \pm 6,0	175,8 \pm 7,0	113,7 \pm 0,6
ФП, %	64,0 \pm 3,6	67,6 \pm 5,9	82,7 \pm 6,9	72,0 \pm 5,4	88,0 \pm 6,4	80,0 \pm 5,3	91,0 \pm 5,9
ФЧ	1,98 \pm 0,2	5,0 \pm 1,0	2,8 \pm 0,4	5,4 \pm 0,7	2,7 \pm 0,24	6,1 \pm 0,9	3,4 \pm 0,3

Примечание: ОП — оптическая плотность; ФЧ — среднее число микроорганизмов, поглощенных одним фагоцитом (фагоцитарное число); ФП — процент клеток, участвующих в фагоцитозе; доза в расчете на 1 мышшь

Таблица 7

Влияние тканей *H. aurantium* на антиокислительную активность крови мышей, среднее \pm SD

Тест	Контроль	Экстракт туники		Мантия		Гемолимфа	
		50 мкл	0,5 мкл	10 мг	100 мкг	2 мг	20 мкг
АОА, %	15,2 \pm 3,8	32,0 \pm 3,1	25,1 \pm 3,0	32,4 \pm 3,4	28,5 \pm 3,4	34,4 \pm 4,6	31,0 \pm 3,9
МДА, нмоль/г	9,5 \pm 0,2	8,3 \pm 0,2	7,0 \pm 0,3	9,4 \pm 0,2	8,4 \pm 0,4	8,7 \pm 0,5	7,5 \pm 0,4

Примечание: АОА — антиокислительная активность; МДА — малоновый диальдегид; доза в расчете на 1 мышшь

Заключение

Таким образом, установлена способность БАВ асцидий стимулировать бактерицидную и фагоцитарную активности нейтрофилов перитонеальной полости мышей, при наибольшей выраженности этих эффектов для гемолимфы. Одновременно усиливались антиоксидантные свойства сыворотки крови, что обеспечивает замедление интенсивности перекисных процессов. Следовательно, данные продукты способны оказывать общеукрепляющее и противовоспалительное действие, повышать иммунный статус, положительно влиять на снижение риска возникновения сердечно-сосудистых и онкозаболеваний.

Количественный и качественный состав азотистых экстрактивных соединений тканей асцидий может служить их отличительной характеристикой и использоваться как биохимический критерий идентификации органов и тканей асцидий и продуктов на их основе. Преобладание таурина и высокое содержание пролина в составе свободных аминокислот, выполняющих осморегулятивную функцию, отличает этот класс животных от беспозвоночных. Состав протеиногенных аминокислот в тканях асцидий в целом сходен с составом тканей других животных. Исключение составляют гемолимфа и туника. Наличие в тунике каротинопротеинов во многом определяет состав аминокислот; об этом сходстве свидетельствует суммарное количество аминокислот различных групп, а также их соотношения.

Приведенные данные говорят о том, что туника асцидий имеет сложное и уникальное строение, вследствие наличия в ее составе, как целлюло-, так и хитиноподобных сульфатированных полисахаридов. В природе, возможно, аналогичная структура, представляющая собой хитин-глюкановый комплекс, встречается в клеточной стенке грибов, где связь между этими составляющими носит ковалентный характер, что предопределяет сложность их разделения. Широкий спектр биологической активности, выявленной для ХГК: высокая сорбционная способность по отношению к ионам тяжелых металлов и жирам, иммуномодулирующие, антибактериальные и противовирусные свойства, — позволяет предполагать аналогичные возможности для препаратов из туники асцидий.

Литература

1. Владимирова Е.Г., Ушакова Г.И., Кушнарёва О.П. Биохимия зерна, биохимия хлебопечения; биохимия бродильных производств: Методические указания к лабораторному практикуму. — Оренбург: ОГУ, 2004. — 61 с.

2. Еляков Г.Б., Стоник В.А. Морская биоорганическая биохимия — основа морской биотехнологии // Известия Академии наук. Серия химическая. — 2003. — № 1. — С. 1–18.
3. Клебанов Г.И. Антиоксиданты. Антиоксидантная активность. Методы исследования // Журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2001. — Т. 11. — № 4. — С. 109–118.
4. Моторя Е.С., Пивненко Т.Н., Гажга А.С. и др. Исследование иммуномодулирующей и мембранотропной активностей каротиноидов из туники асцидии *Halocynthia aurantium* // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2009. — № 3. — С. 28–32.
5. Пивненко Т.Н. Биологически активные добавки к пище из гидробионтов: состав, свойства и направления практического применения // Рыбоводство и рыбное хозяйство. — 2006. — № 12. — С. 5–18.
6. Стоник В.А., Толстиков Г.А. Природные соединения и создание отечественных лекарственных препаратов // Вестник РАН. — 2008. — Т. 78. — № 8. — С. 675–687.
7. Усов А.И., Сланчев К.И., Смиронова Г.П. и др. Полярные компоненты асцидии *Botryllus schlosseri* // Биоорганическая химия. — 2002. — Т. 28. — № 2. — С. 168–172.
8. Феофилова Е.П. Ключевая роль хитина в образовании клеточной стенки грибов / В кн.: Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. — 2002. — С. 91–100.
9. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные подходы к оценке основных этапов фагоцитарного процесса // Иммунология. — 1995. — № 4. — С. 3–8.
10. Шабрукова Н.В., Шестакова Л.М., Зайнетдинова Д.Р., Гамаюрова В.С. Исследование кислотного гидролиза хитин-глюканового и хитозан-глюканового комплексов // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. — 2002. — № 8. — С. 57–59.
11. Agrawal M., Bowden B.F., McCool B.J., Willis R.H. Alkaloids and peptides from Australian sponges and ascidians / In: Intern. Symp. on Marine Drugs, Qingdao (China), 2004. — P. 114–115.
12. Anno K., Otsuka K., Seno N. A chitin sulfite-like polysaccharide from the test of the tunicate *Halocynthia roretzi* // Biochem. Biophys. Acta. — 1974 — Vol. 362. — P. 215–219.
13. Choi B.-D., Kang S.-J. Utilization of ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. 3. Carotenoid composition of ascidian tunic // J. Korean Fish. Soc. — 1994. — Vol. 27. — No. 4. — P. 344–350.
14. Choi B.-D., Kang S.-J., Lee K.-H. Quality improvement of rainbow trout with pigments and enzymatic hydrolysates of ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. 1. Chemical specificity of ascidian tunic and its hydrolysates // J. Korean Fish. Soc. — 1996. — Vol. 29. — No. 3. — P. 345–356.
15. Dubois M., Gilles K., Hamilton J.K., Rebers P.A. A colorimetric method for the determination of sugars and

- related substances // *Anal. Chem.* – 1956. – Vol. 28. – P. 350–356.
16. *Elson L.A. and Morgan W.J.* A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine // *Biochem. J.* – 1933. – Vol. 27. – P. 1824–1828.
17. *Hunt S.* Polysaccharide-protein complexes in invertebrates. – Academic Press. London, 1970. – 149 p.
18. *Jang W.S., Kim K.N., Lee Y.Sh., Nam M.H., Lee I.H.* Halocidin: a new antimicrobial peptides from hemocytes of the solitary tunicate, *Halocynthia roretzi* // *FEBS Letters.* – 2002. – Vol. 521. – P. 81–86.
19. *Lee K.H., Choi B.D., Hong B.I., Jong B.C., Ruck J.H., Jung W.J.* Functional properties of sulfated polysaccharides in ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic // *J. Korean Fish. Soc.* – 1998. – Vol. 31. – No. 3. – P. 447–451.
20. *Ookubo M., Matsuno T.* Carotenoids of Sea Squirts – II. Comparative Biochemical studies of carotenoids in Sea Squirts // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1985. – Vol. 81B. – No. 1. – P. 137–141.
21. *Pavao M.S.* Unique sulfated polysaccharides from ascidians (Chordata, Tunicata) // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 1996. – Vol. 29. – No. 9. – P. 1227–1233.
22. *Preston R.L.* Transport of amino acids by marine invertebrates // *J. Exp. Biol.* – 1993. – Vol. 256. – No. 4. – P. 410–421.
23. *Quarmany B., Norden D.A., Zagalsky P.F., Ceccaldi H.J., Daumas R.* Studies on the quaternary structure of the lobster exoskeleton carotenoprotein, crustacyanin // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1977. – Vol. 56B. – P. 55–61.
24. *Wright S.H.* Multiple pathways for amino acid transport in *Mytilus* gill // *J. Comp. Physiol. Biochem.* – 1985. – Vol. 156. – No. 2. – P. 259–267.
25. *Zagalsky P.F., Eliopoulos E.E., Findlay J.B.C.* The architecture of invertebrate carotinoproteins // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1990. – Vol. 97B. – No. 1. – P. 1–18.

DISTRIBUTION, PROPERTIES AND PROSPECTS FOR THE USE OF NITROGENOUS AND CARBOHYDRATE COMPOUNDS OF VARIOUS TISSUES OF THE FAR EASTERN SEA SQUIRTS

T.N. PIVNENKO¹, P.A. ZADOROZHNYI², V.A. ZARUBKINA¹, L.A. IVANUSHKO³

¹ *Far Eastern State Technical Fisheries University,*

² *Institute of Chemistry, Far East Branch RAS,*

³ *G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology SB RAMS, Vladivostok*

The content of nitrogenous components, proteins and carbohydrates in the tissues and organs of the two species of sea squirts *Halocynthia aurantium* and *Styella clava*. There was a preponderance of taurine and proline containing high in all the samples studied. Composition proteinogenic amino acids in the tissues of sea squirts in general similar to the composition of tissues of other animals except for hemolymph and tunics, which is associated with their functional role. The data obtained can be used as a biochemical criterion for identification of organs and tissues of sea squirts and products based on them. As part of the ascidian tunics found cellulose and chitin. Enzymatic hydrolysis of water-soluble carbohydrate fraction isolated. Shows a high degree of sulfation of hexosamines. Held infrared spectroscopy of the samples showed the presence of peaks characteristic of chitosan and sulfo groups. Investigated the immunostimulatory and antioxidant activity.

Keywords: amino acids, karotinoproteiny sulfated carbohydrates, chitin, cellulose, immunomodulatory and antioxidant activity, ascidians.

СКРИНИНГ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ НА ПРИСУТСТВИЕ ДНК-МАРКЕРОВ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БОЛЕЗНЯМ

Н.Е. ПАВЛОВСКАЯ^{1*}, И.Г. ЛОСКУТОВ², А.В. ПИКУНОВА^{1,3}, А.Ю. ГАВРИЛОВА¹

¹ ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет», Орел;

² ГНУ «Всероссийский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова», Санкт-Петербург;

³ ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур», Орловская область

В данной работе 14 сортов ячменя из коллекции ВИР генотипированы по локусам, сцепленным с генами устойчивости к карликовой ржавчине (*Puccinia hordei* G.H. Otth.) и мозаичной желтухе ячменя. У всех сортов установлено присутствие гена *gym4* и отсутствие гена *gym5*. Ген *gym4* дает устойчивость к двум формам вируса мозаичной желтухи ячменя, в то время как ген *gym5* обеспечивает устойчивость также и к третьей форме. Соответственно целесообразно привлечение в селекцию отечественных сортов ячменя доноров гена *gym5*, обеспечивающего устойчивость к более широкому кругу форм вируса. При амплификации локуса TC2863-12.4, сцепленного с геном *Rph5* устойчивости к карликовой ржавчине ячменя, у протестированных сортов искомым аллель не обнаружен. Проведено маркирование 8 районированных по Центрально-Черноземным районам сортов пшеницы с различной устойчивостью к бурой ржавчине (*Puccinia triticina* Erikss.) по трем генам устойчивости к данному патогену *Lr24*, *Lr39(41)*, *Lr47*. В наших исследованиях аллели, отвечающие за присутствие вышеперечисленных генов, не были найдены, в том числе и у сортов, устойчивых и слабо восприимчивых к поражению бурой ржавчиной. Вероятно, устойчивость этих сортов обусловлена присутствием иных генов. Генотипирование локусов, сцепленных с генами устойчивости в отечественной гермплазме, будет способствовать выявлению генов, обеспечивающих устойчивость к болезням в условиях России, позволит разработать стратегию маркер-вспомогательного отбора.

Ключевые слова: ячмень *Hordeum vulgare*, пшеница *Triticum*, ДНК-маркеры, гены устойчивости, устойчивость ячменя к мозаичной желтухе, устойчивость пшеницы к бурой ржавчине.

Введение

В последние годы в практическую работу селекционера приходит такой мощный инструмент отбора, как молекулярные маркеры. Будучи сцепленными с генами, отвечающими за проявление важнейших хозяйственно ценных признаков сельскохозяйственных растений, они позволяют достоверно провести отбор на уровне отдельного растения или селекционной линии непосредственно по генотипу, не завуалированному модифицирующим действием средовых факторов [7, 22].

Например, молекулярные маркеры широко используют в своей работе селекционеры США, Европейского Союза, Австралии, Японии, Китая и других стран. По данным J. Dubcovsky [13], программа, действующая в

США «MAS wheat», охватывает около 430 проектов, направленных на молекулярно-генетически контролируемый перенос 43 генов в 75 родительских форм пшеницы.

В Орловской области в 2012 году общая площадь озимой пшеницы составляла 368 тыс. гектаров. Яровой ячмень занимает почти 175 тыс. гектаров. Однако потери зерновых от болезней без применения пестицидов могут составлять до 15% [2]. Наиболее распространенными болезнями озимой пшеницы в Орловской области являются головневые, виды ржавчины, мучнистая роса, септориоз, корневые гнили и некоторые другие [9].

Бурая (или листовая) ржавчина, возбудителем которой является *Puccinia triticina* Erikss., — одна из основных вредоносных болезней пшеницы в большинстве регионов возделывания. Наиболее экономически выгодным и экологически безопасным методом борьбы с заболеванием служит выращивание устойчивых сортов. Однако запас эффективных генов устойчивости к болезни крайне мал. Анализ данных литературы показывает, что наиболее эффективными генами ювенильной устойчивости в России являются *Lr24*, *Lr39(41)* и *Lr47* [3].

© 2014 г. Павловская Н.Е., Лоскутов И.Г., Пикунцова А.В., Гаврилова А.Ю.

* Автор для переписки:

Павловская Нинель Ефимовна

доктор биологических наук, профессор

Орловский государственный аграрный университет

E-mail: ninel.pavlovskaya@yandex.ru

Сейчас особенно важное значение приобрела мозаичная желтуха ячменя. Возбудителем болезни являются вирусы Barley yellow mosaic virus (BaYMV), Barley mild mosaic virus (BaMMV), Barley yellow mosaic virus-2 (BaYMV-2), которые вызывают почти одинаковые симптомы болезни на растениях ячменя и переносятся грунтовыми грибом *Polymyxa graminis* Led. Резервируются и хранятся они в пораженных растениях озимого ячменя. В результате биологических особенностей возбудителей болезни картина поражения растений и распространения инфекции в поле происходит следующим образом: сначала болезнь на поле появляется в виде небольших очагов, затем на тех же местах пораженные участки стремительно разрастаются в направлении обработки; за 10 лет на этом поле происходит полное заражение почвы вирусами. Наиболее часто данная болезнь встречается в областях традиционного выращивания ячменя. Недобор урожая на пораженных полях может составлять от 20 до 60%. Очаги болезни возникают на протяжении всей весны. Пожелтение и отмирание листьев происходит в зависимости от температуры. Пораженные растения отстают в росте и достигают лишь половины высоты здоровых растений. Болезнь вызывается почвообитающим вирусом, который переносится грибом *Polymyxa graminis*. В качестве единственной успешной меры борьбы с мозаичной желтухой зарекомендовало себя внедрение устойчивых к вирусу сортов ячменя [6].

Карликовая ржавчина ячменя, вызываемая грибом *Puccinia hordei* G.H. Otth. распространена повсеместно

в мире в регионах возделывания ячменя. В России это заболевание наиболее вредоносно в районах Поволжья, Северного Кавказа, Центрально-Черноземном районе, Западной и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке, где она развивается практически ежегодно. Эпифитотии возникают с частотой 1–2 раза в 10 лет в Северо-Кавказском, Центрально-Черноземном районах и Поволжье. Потери урожая в этих районах составляют 10–20%. Защитные мероприятия включают в себя применение фунгицидов, культивирование устойчивых сортов с эффективными генами или с различным уровнем неспецифической устойчивости [1].

Внедрение молекулярных маркеров в традиционную схему селекции требует проведения предварительных исследований по изучению их эффективности, уникальности при отборе и разработке индивидуальной методики для конкретной селекционной программы.

Целью нашей работы было генотипирование локусов, ассоциированных с некоторыми генами устойчивости ячменя к мозаичной желтухе и карликовой ржавчине а также пшеницы к бурой ржавчине.

Материалы и методы

Условия эксперимента. В работе использовался генетический материал ячменя (*Hordeum vulgare* L.) из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова (табл. 1), а также районированные в Центрально-Черноземном регионе сорта пшеницы (*Triticum* L.) (табл. 2).

Таблица 1

Сорта и линии ячменя (коллекция ВИР им. Н.И. Вавилова)

№ п.п.	Название, разновидность, подвид (оригинатор)	Номер по каталогу ВИР образца	Краткое описание
1	Белогорский, var. pallidum, gikotense (Ленинградская область)	22089	Средне устойчив к полеганию, устойчив к пыльной головне, восприимчив к мучнистой росе и пятнистостям
2	Золотник, var. medicum (Новосибирская область)	30845	Средне устойчив к полеганию, устойчив к каменной головне, поражается мучнистой росой и пятнистостями
3	Белорусский 76, var. nudum (Беларусь)	27080	Устойчивый к полеганию, устойчивый к мучнистой росе
4	Московский 121, var. nutans (Московская область)	19417	Средне устойчив к полеганию, поражается всеми грибными болезнями
5	Amulet, var. nutans (Чехия)	30943	Устойчивый к полеганию, устойчивый к мучнистой росе, слабо поражается пятнистостями
6	Kleine gerste, var. coeleste (Германия)	29864	Полегают при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями
7	Westendorf Tirol, var. nudum (Австрия)	28292	Полегают при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями
8	Korona Laschego, var. coeleste (Польша)	27471	Полегают при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями

9	Местный, var. coeleste (Ленинградская область)	17844	Полегают, поражается грибными болезнями
10	Омский голозерный, var. nudum (Омская область)	30919	Полегают при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями
11	Сигнал, var. nutans (Новосибирская область)	30846	Средне устойчив к полеганию, поражается всеми грибными болезнями
12	23007, var. nudum (Дания)	30440	Полегают при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями
13	Местный, var. nudum (Армения)	6557	Полегают, поражается грибными болезнями
14	Местный, var. nudum (Дагестан)	14981	Полегают, поражается грибными болезнями

Таблица 2

Сорта пшеницы

№ п.п.	Название (оригинатор)	Краткое описание
1	Московская 39 (НИИСХ Центральных районов Нечерноземной зоны)	Устойчив к твердой головне, снежной плесени и септориозу, в средней степени поражается бурой ржавчиной и мучнистой росой
2	Немчиновская 57 (ГНУ НИИСХ Центральных районов Нечерноземной зоны)	Среднеспелый, устойчив к полеганию, к мучнистой росе и твердой головне, поражается бурой ржавчиной
3	Безенчукская 182 (Самарский НИИСХ им. Н.М. Тулайкова)	Устойчив к поражению мучнистой росой и желтой ржавчиной, в средней степени восприимчив к бурой ржавчине
4	Дарья (Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию)	Средне поражен мучнистой росой; умеренно восприимчив к септориозу; восприимчив к бурой ржавчине, пыльной и твердой головне
5	Бирюза (Самарский НИИСХ)	Устойчив к поражению бурой ржавчиной и мучнистой росой
6	Ариадна (Белгородский НИИСХ)	Умеренно восприимчив к бурой ржавчине. Восприимчив к твердой головне, снежной плесени
7	Тризо (DSV, Германия)	Умеренно восприимчив к бурой ржавчине, мучнистой росе. Сильно восприимчив к твердой головне
8	Харьковская 27 (Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева УААН)	Сорт яровой с урожайностью 20–30 ц/га, обладает повышенной засухоустойчивостью и адаптивностью

Таблица 3

Методики генотипирования по локусам, сцепленным с генами устойчивости пшеницы к бурой ржавчине

№	Ген (источник)	Маркер к гену	Праймеры	Температура отжига праймеров	Литература
1	Lr24 (Источник: <i>Agropyron elongatum</i> Host)	SCAR-маркер SCS73719	SCS73F-5'-TCGTCCAGATCAGAATGTG-3' SCS73R-5'-CTCGTCGATTAGCAGTGAG-3'	55 °C	[4, 12]
2	Lr39(41) (Источник: <i>Ae. tauschii</i> Coss.)	SSR-маркер GDM35	GDM35-L-5'-CCTGCTCTGCCCTAGATACG-3' GDM35-R-5'-ATGTGAATGTGATGCATGCA-3'	55 °C	[4, 21]
3	Lr47 (Источник: <i>Ae. speltoides</i> (Taush al.))	Маркер PS10	PS10R-5'-GCTGATGACCCTGACCGGT-3' PS10L-5'-TCTTCATGCCCGGTTCGGGT-3'	55 °C	[5, 14]

Методики генотипирования по локусам, сцепленным с генами устойчивости ячменя к мозаичной желтухе и карликовой ржавчине

№	Ген	Маркер	Праймеры	Температура отжига праймеров	Литература
1	<i>rum4</i> (устойчивости к мозаичной желтухе ячменя)	CAPS-маркер <i>rum4</i>	<i>rum4F</i> -AGATCGCGGACGACGGAGAC <i>rum4R</i> -GGCTACCTCCAGAAGTCCTCGACG	64 °C	[23]
2	<i>rum5</i> (устойчивости к мозаичной желтухе ячменя)	CAPS-маркер <i>rum5</i>	<i>rum5F</i> -ATGTTGGAGCCGACTTCCAT <i>rum5R</i> -GTTACCAATCAATGCCAGCAA	60 °C	[23]
3	<i>Rph5</i> (устойчивости к карликовой ржавчине)	STS-маркер TC2863-12.4	TC2863-12.4F-TACAAATACGTGCCCTTCAACATC TC2863-12.4R-AGCCTCGTCTGACTCTATCTTCC	60 °C	[17]

Выделение ДНК проводили с помощью набора реагентов SILICA *uni* компании «Биоком». Для проведения амплификации использовали набор реагентов GenPak PCR Core («БИОКОМ», Россия), амплификацию осуществляли в приборе «AMPLY4» фирмы «Биоком» (Россия).

Нуклеотидные последовательности праймеров и параметры ПЦР-реакции, использованные при идентификации генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине, приведены в таблице 3.

Нуклеотидные последовательности праймеров и параметры ПЦР-реакции, использованные при идентификации генов устойчивости ячменя к карликовой ржавчине и мозаичной желтухе, приведены в таблице 4.

ПЦР-продукты амплификации с праймерами *rum5* и *rum4* далее подвергались рестрикции рестриктазами *Ava* II, *Ava* I, соответственно, при 37 °C в течение четырех часов.

Анализ размеров фрагментов проводили методом горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием.

Результаты и обсуждение

Генотипирование локусов, связанных с устойчивостью ячменя к мозаичной желтухе. При амплификации с праймерами *rum5F* и *rum5R* в соответствии с методикой был получен фрагмент размером 241 п.н. После рестрикции с рестриктазой *Ava*II присутствие фрагментов 159 и 82 п.н. свидетельствует об отсутствии гена, а отсутствие рестрикции, то есть наличие фрагмента 241 п.н. — о присутствии гена *rum5*. В на-

ших исследованиях ген *rum5* в виде гетерозиготы был обнаружен только у сорта Токуо (рис. 1), взятого для анализа в качестве контроля. Интересно, что, по данным T. Sedlacek et al. (2010) [23], Токуо имеет ген *rum5* в гомозиготной форме. У всех остальных сортообразцов были выявлены только фрагменты 159 и 82 п.н., свидетельствующие об отсутствии гена *rum5*.

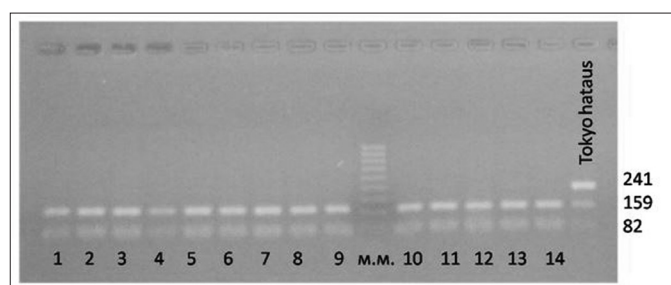


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов рестрикции на присутствие гена *rum5* (внизу указаны номера сортов ячменя в соответствии с таблицей 1, справа — размеры фрагментов рестрикции в п.н., м.м. — маркер молекулярной массы 50, размеры его фрагментов — 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100 и 50 п.н.)

При амплификации с праймерами *rum4F* и *rum4R* в соответствии с методикой был получен фрагмент размером 184 п.н. После рестрикции с рестриктазой *Ava*I присутствие фрагментов 77, 75 и 32 п.н. свидетельствует о наличии двух сайтов рестрикции и об отсутствии гена, а присутствие фрагментов 107 и 77 п.н. (один сайт рестрикции) говорит о присутствии гена *rum4*. В наших исследованиях ген *rum4* был выявлен у всех протестированных сортов (рис. 2).

Гены *rum4* и *rum5* — рецессивные гены, представляющие собой аллельные формы гена *Hv-eIF4E*.

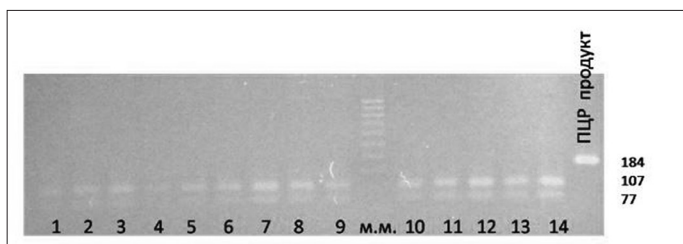


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов рестрикции и ПЦР-продукта (крайняя дорожка справа) на присутствие гена *rum4* (внизу указаны номера сортов ячменя в соответствии с таблицей 1, справа — размеры наблюдаемых фрагментов в п.н., м.м. — маркер молекулярной массы 50, размеры его фрагментов — 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100 и 50 п.н.)

Устойчивость европейских сортов ячменя базируется на этих генах (Stein N. et al., 2005) [24]. Используемые в данной работе CAPS маркеры были разработаны Т. Sedlacek et al. (2010) [23], они основаны непосредственно на полиморфизмах однонуклеотидных замен, ответственных за мутации, создавшие *rum4* / *rum5* аллели. Разработчики обнаружили идеальную корреляцию между CAPS маркерами и выявлением генов на основании полевого испытания.

В наших исследованиях у всех протестированных сортов ячменя из коллекции ВИР установлено присутствие гена *rum4* и отсутствие гена *rum5*. Ген *rum4* обеспечивает устойчивость к двум формам вируса, в то время как ген *rum5* обеспечивает устойчивость также и к третьей форме [24]. Соответственно целесообразно привлечение к селекции отечественных сортов ячменя доноров гена *rum5*.

Генотипирование локусов, связанных с устойчивостью ячменя к карликовой ржавчине. Ген *Rph5* был картирован J.A. Mammadov et al. (2005) [17]. В результате авторы обнаружили несколько молекулярных маркеров, которые косегрегировали с геном в популяции Bowman × Magnif 102. Далее, при тестировании маркеров на 58 линиях, полученных в Государственном политехническом институте и университете штата Вирджиния (Virginia Polytechnic Institute and State University), и 7 сортах ячменя было обнаружено два маркера, которые были сцеплены с геном и в этом материале, в том числе маркеры были обнаружены у линий-доноров гена *Rph5*: VA-92-42-46, Magnif-102 [16]. Один из этих маркеров ТС2863-12.4 был протестирован нами на 14 сортах ячменя из коллекции ВИР (рис. 3).

При амплификации локуса ТС2863-12.4, на ДНК большинства образцов был получен фрагмент размером приблизительно 360 п.н. На ДНК образцов 17 и 18

получен фрагмент размером приблизительно 280 п.н. В статье J.A. Mammadov et al. (2007) [16] указывается, что с геном *Rph5* был сцеплен аллель размером 154 п.н. В наших исследованиях такой аллель не был амплифицирован. Таким образом, искомым аллель в протестированных сортах не был найден.

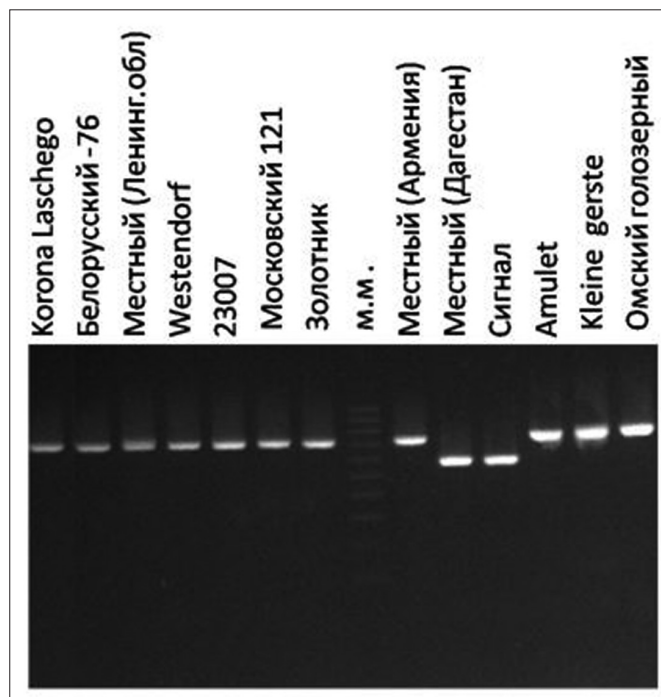


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов амплификации локуса ТС2863-12.4 (м.м. — маркер молекулярной массы М-50, размеры его фрагментов — 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100 и 50 п.н.)

В настоящее время идентифицировано более 17 генов устойчивости ячменя к карликовой ржавчине [15] и ряд локусов количественных признаков [11, 18], расположенных на различных хромосомах. Ген *Rph5* обеспечивает устойчивость к большинству рас патогена, распространенных в США, хотя в Европе и Южной Америке преобладают вирулентные расы [17]. Данных по уровню устойчивости, обеспечиваемому этим и другими генами в условиях РФ, нами, к сожалению, не обнаружено. Донор гена *Rph5* — сорт Магниф-102, а также ряд селекционных линий, в том числе VA-92-42-46 [16]. В работе Л.Г. Тырышкина (2009) [10] изучалась устойчивость к карликовой ржавчине образцов ячменя Мировой коллекции ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. По полученным результатам, большинство образцов, описанных в литературе как высокоустойчивые, в данной работе были определены как восприимчивые к болезни. Это подтверждает актуальность поиска доноров устойчивости ячменя к карликовой ржавчине в условиях РФ, привлечения к селекции новых генов устойчивости.

Идентификация маркеров устойчивости пшеницы к бурой ржавчине. По данным D.P. Cherukuri et al. (2003) [12], с геном *LR24*, связанным с устойчивостью к ржавчине бурой пшеницы, был сцеплен аллель размером 719 п.н. В наших исследованиях такой аллель не был амплифицирован (рис. 4).

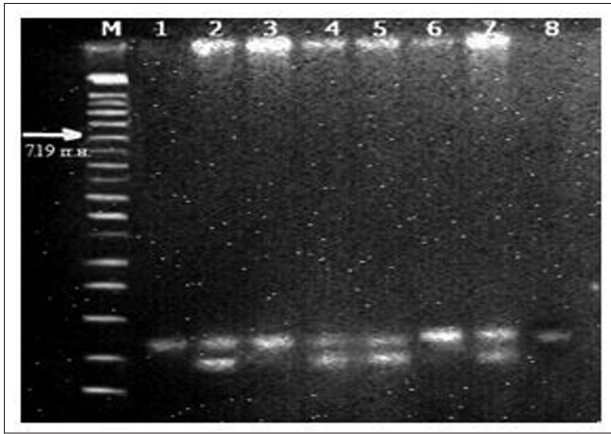


Рис. 4. Электрофореграммы продуктов амплификации сортообразцов с маркером SCAR73719. 1 – яр. пшеница «Триза»; 2 – оз. пшеница «Московская 39»; 3 – яр. пшеница «Харьковская 27»; 4 – оз. пшеница «Ариадна»; 5 – яр. пшеница Безенчукская 182; 6 – оз. пшеница «Бирюза»; 7 – оз. пшеница Немчиновская 57; 8 – яр. пшеница «Дарья»

По данным M. Helgyera et al. (2000) [14], с геном *LR47*, связанным с устойчивостью к бурой ржавчине пшеницы, выявляется продукт амплификации размером 282 п.н. В наших исследованиях такой продукт не был найден.

По данным X. Sun et al. (2009) [25], с геном *LR39*, связанным с устойчивостью к ржавчине пшеницы, выявляется продукт амплификации размером 190 п.н. В наших исследованиях такой продукт не был идентифицирован.

Л.Е. Плотникова с соавторами [8] изучали эффективность генов возрастной устойчивости пшеницы к бурой ржавчине в условиях Юга Западной Сибири с использованием сорта Тэтчер (Тс), несущего ген *Lr22b*, и его почти изогенных линий *TcLr34* и *TcLr37*. Ген *Lr22b* был неэффективен, *Lr34* снижал скорость развития болезни при среднесуточной температуре ниже 16 °С, но был мало эффективен при температуре выше 20 °С. Ген *Lr37* обеспечивал высокую защиту от болезни независимо от внешних условий.

В наших исследованиях аллели, отвечающие за присутствие генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине *Lr24*, *Lr39(41)*, *Lr47*, не были обнаружены, в том числе и у сортов, устойчивых и умеренно восприимчивых

(Бирюза, Ариадна, Тризо и др.) к поражению данной болезнью. Вероятно, устойчивость этих сортов обусловлена присутствием иных генов.

Заключение

Устойчивость к различным заболеваниям у злаковых культур носит полигенный характер. Каждый признак определяется набором генов: так, для пшеницы устойчивость к бурой ржавчине определяется 49 генами группы *Lr* [19].

Для ячменя выявлен ряд генов устойчивости к карликовой ржавчине, в том числе *Rph5* и *Rph7*, ряд генов устойчивости к вирусу мозаичной желтухи ячменя, в том числе *ymt4* и *ymt5* [15–18, 20, 23].

В данной работе сорта ячменя из коллекции ВИР и районированные в Центрально-Черноземных районах сорта пшеницы были генотипированы по локусам, сцепленным с генами устойчивости. По данным ДНК-маркеров, только один из трех генов устойчивости ячменя был обнаружен в протестированном материале и ни одного – из трех генов устойчивости пшеницы. Это свидетельствует о необходимости привлечения к селекции доноров устойчивости.

Более обширные исследования по генотипированию отечественных коллекций зерновых, идентификация генов на основании ДНК-маркирования, оценка значимости тех или иных генов в условиях России создадут основу для внедрения методов маркер-вспомогательного отбора в селекционную практику, расширят наше понимание генетической детерминации устойчивости и позволят полнее использовать накопленный мировым сообществом генофонд.

В результате проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Протестированно 14 сортов ячменя из коллекции ВИР на присутствие генов *ymt4* и *ymt5* устойчивости ячменя к мозаичной желтухе. У всех сортов установлено присутствие гена *ymt4* и отсутствие гена *ymt5*. Ген *ymt4* дает устойчивость к двум формам вируса известным как ВаММV (Barley mild mosaic virus – неострая форма вируса мозаики ячменя), ВаУМV (Barley yellow mosaic virus – вирус желтой мозаики ячменя). В то время как ген *ymt5* обеспечивает устойчивость также и к третьей форме ВаУМV-2 (вирус желтой мозаики ячменя-2) (Stein N. et al., 2005) [24]. Соответственно целесообразно привлечение к селекции отечественных сортов ячменя доноров гена *ymt5*, обеспечивающего устойчивость к более широкому кругу форм вируса.

2. При амплификации локуса TC2863-12.4, сцепленного с геном *Rph5* (Mammadov J.A., 2007) [16] устойчивости к карликовой ржавчине ячменя, *Puccinia hordei*, у протестированных сортов искомым аллель не обнаружен.

3. В наших исследованиях аллели, отвечающие за присутствие генов *Lr24*, *Lr39(41)*, *Lr47* устойчивости пшеницы к бурой ржавчине, не были выявлены у восьми районированных по Центрально-Черноземным районам сортов пшеницы, в том числе и у сортов, устойчивых к поражению данной болезнью. Вероятно, устойчивость этих сортов обусловлена присутствием иных генов.

Литература

1. Афанасенко О.С. http://www.agroatlas.ru/ru/content/diseases/Hordei/Hordei_Puccinia_hordei/.
2. Гончаров Н.Р. <http://www.z-i-k-r.ru/interest/interest1.html>.
3. Гультяева Е.И. Методы идентификации генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине с использованием ДНК-маркеров и характеристика эффективности LR-генов. — СПб., 2012. — 71 с.
4. Гультяева Е.И., Баранова О.А., Дмитриев А.П. Вирулентность и структура популяций *Puccinia triticina* в РФ в 2007 году // Вестник защиты растений. — 2009. — № 4. — С. 33–38.
5. Гультяева Е.И., Косман Е., Дмитриев А.П., Баранова О.А. Структура популяций *Puccinia triticina* по вирулентности и ДНК-маркерам в Северо-Западном регионе РФ в 2007 году // Микология и фитопатология. — 2011. — Т. 45(1). — С. 70–81.
6. Дорофеева Л.Л., Шкаликов В.А. Болезни зерновых культур. — М.: Байер КропСайенс, 2007. — 96 с.
7. Павловская Н.Е., Гагарина И.Н., Прудникова Е.Г. Применение ПЦР-метода для маркирования сельскохозяйственных растений [На примере сортов фасоли и пшеницы] // Вестник ОрелГАУ / Орлов. гос. аграр. ун-т. Орел. — 2009. — № 3(18). — С. 32–35.
8. Плотникова Л.Я., Штубей Т.Ю. Эффективность генов возрастной устойчивости пшеницы к бурой ржавчине *Lr22b*, *Lr34*, *Lr37* в западной Сибири и цитофизиологическая основа их действия // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2012. — Т. 16. — № 1. — С. 123–131.
9. Портал Орловской области — публичный информационный центр. <http://orel-region.ru/index.php?head=1&unit=2754>.
10. Тырышкин Л.Г. Генетический контроль эффективной устойчивости коллекционных образцов ячменя *Hordeum vulgare* L. к карликовой ржавчине // Генетика. — 2009. — Т.45. — № 3. — С. 376–378.
11. Chen X., Niks R.E., Hedley P.E., Morris J., Druka A., Marcel T.C., Vels A., Waugh R. Differential gene expression in nearly isogenic lines with QTL for partial resistance to *Puccinia hordei* in barley // BMC Genomics. — 2010. — Vol.11. — No. 629. — P. 1–13.
12. Cherukuri D.P., Gupta S.K., Charpe A. Identification of a molecular marker linker to an *Agropyron elongatum*-derived gene for leaf rust resistans in wheat // Plant Breeding. — 2003. — Vol. 122. — P. 204–208.
13. Dubcovsky J. Marker assisted selection in public breeding programs: The wheat experience // Crop Science. — 2004. — Vol. 44. — P. 1895–1898.
14. Helgyera M., Khan I., Dubcovsky J. Development of PCR marker for wheat leaf rust resistance gene *Lr 47* // Theoretical and Applied Genetics. — 2000. — Vol. 101(4). — P. 625–631.
15. Hickey L.T., Lawson W., Platz G.J., Dieters M., Arief V.N., German S. et al. Mapping *Rph20*: a gene conferring adult plant resistance to *Puccinia hordei* in barley // Theor. Appl. Genet. — 2011. — Vol. 123. — No. 1. — P. 55–68.
16. Mammadov J.A., Brooks W.S., Griffey C.A. and Saghai Maroof M.A. Validating molecular markers for barley leaf rust resistance genes *Rph5* and *Rph7* // Plant Breeding. — 2007. — Vol. 126. — P. 458–463.
17. Mammadov J.A., Steffenson B.J., Saghai Maroof M.A. High-resolution mapping of the barley leaf rust resistance gene *Rph5* using barley expressed sequence tags (ESTs) and synteny with rice // Theor. Appl. Genet. — 2005. — Vol. 111. — P. 1651–1660.
18. Marcel T.C., Gorguet B., Ta M.T., Kohutova Z., Vels A. and Niks R.E. Isolate specificity of quantitative trait loci for partial resistance of barley to *Puccinia hordei* confirmed in mapping populations and near-isogenic lines // New Phytologist. — 2007. — Vol. 177. — No. 3. — P. 743–755.
19. McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dybkovsky J. et al. Catalogue of gene symbols for wheat / Wheat genetic resources database KOMUGI. — 2010. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp#mg2010>.
20. Ordon F., Werner K., Pellio B., Schiemann A., Friedt W., Graner A. Molecular breeding for resistance to soil-borne viruses (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) of barley (*Hordeum vulgare* L.) // Journal of Plant Diseases and Protection. — 2003. — Vol. 110. — No. 3. — P. 287–295.
21. Pestsova E., Ganai M.W., Roder M.S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat // Genom. — 2000. — Vol. 43(3). — P. 689–697.
22. Rahman M., Asif M., Shaheen T., Tabbasam N., Zafar Y. & Paterson A.H. Marker-assisted breeding in higher plant taxa / In: Lichfouse E (ed.) Sustainable Agriculture Reviews 6; Alternative Farming Systems, Biotechnology, Drought Stress and Ecological Fertilisation. — Dordrecht: Springer, 2011. — P. 39–76.
23. Sedlacek T., Marik P. and Chrpova J. Development of CAPS marker for identification of *rym4* and *rym5* alleles conferring resistance to the Barley yellow mosaic virus complex in Barley

- // Czech J. Genet. Plant Breed. – 2010. – Vol. 46(4). – P. 159–163.
24. Stein N., Perovic D., Kumlehn J., Pellio B., Stracke S., Streng S., Ordon F., Graner A. The eukaryotic translation initiation factor 4E confers multiallelic recessive Bymovirus resistance in *Hordeum vulgare* (L.) // The Plant Journal. – 2005. – Vol. 42. – P. 912–922.
25. Sun X., Bai G., Carver B.F. Molecular markers for wheat leaf rust resistance gene Lr41 // Mol. Breeding. – 2009. – Vol. 23. – P. 311–321.

SCREENING OF WHEAT AND BARLEY FOR THE PRESENCE OF DNA MARKERS OF DISEASE RESISTANCE GENES

N.E. PAVLOVSKAYA¹, I.G. LOSKUTOV², A.V. PIKUNOVA^{1,3}, A.Y. GAVRILOVA¹

¹ Orel State Agrarian University, Orel;

² N.I. Vavilov Russian Institute of Plant, St. Petersburg;

³ All-Russian Research Institute of Horticultural Crops Selection, Orel region

14 barley varieties from VIR collection have been genotyped in loci associated with leaf rust (*Puccinia hordei* G.H. Otth.) resistance gene (*Rph5*) and barley mosaic virus complex (BaMYV) resistance genes (*rym4*, *rym5*). Gene known as *rym4* has been found in all tested cultivars, *rym5* has not been found. Taking in account that *rym4* provides resistance to two BaMYV strains while *rym5* provides resistance also to third strain, it is worthwhile involve *rym5* in breeding of new barley varieties. When amplification locus TC2863-12.4, meshed with the gene *Rph5* resistance to rust dwarf barley varieties tested at the desired allele is detected. 8 regionalized in Central Chernozem Regions wheat varieties differing in resistance to *Puccinia triticina* Erikss. have been genotyped with DNA markers associated with resistance genes *Lr24*, *Lr39(41)*, *Lr47*. Alleles associated with presence of *Lr24*, *Lr39(41)*, *Lr47* have not been amplified in tested varieties including resistant and slightly susceptible ones. Probably, these varieties resistant due to presence of other genes. Genotyping of Russian germplasm with DNA markers associated with resistance genes will be useful for identification of genes providing resistance in Russian conditions and for development MAS strategy.

Keywords: barley *Hordeum vulgare*, wheat *Triticum*, DNA-markers, resistance genes, resistance to barley mosaic jaundice, wheat resistance to leaf rust.

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА РОСТ И МЕТАБОЛИЗМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ШТАММАХ *PANAX GINSENG* С.А. МЕУ. И *PANAX QUINQUEFOLIUS* L. (ARALIACEAE)

Л.И. СЛЕПЯН*, И.Е. КАУХОВА, Е.С. СОЛОДНИКОВА, И.А. КРАСОВИЦКАЯ

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Минздрава России,
Санкт-Петербург

Обработка ультразвуком (УЗ) штаммов *Panax ginseng* С.А. Меу. и *P. quinquefolius* L. в различные периоды культивирования *in vitro* по-разному влияет на рост штаммов. Оптимальным сроком УЗ-обработки для штамма женьшеня явились 20-е сутки при воздействии УЗ в течение 20 минут, в то время как для штамма панакса были 25-е сутки при воздействии УЗ в течение 30 мин. Обработка УЗ позволяет сократить время культивирования на 10–15 суток и оптимизировать процесс экстрагирования водорастворимых веществ.

Ключевые слова: женьшень обыкновенный, панакс пятилистный, штаммы, рост, водорастворимые экстрактивные вещества, ультразвук.

Введение

В Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии (СПХФА) в 1961–1965 гг. был создан один из первых в России банков штаммов ценных и редких лекарственных растений, не произрастающих или имеющих ограниченный ареал в России. Это были женьшень *Panax ginseng* С.Ф. Меу, панакс пятилистный *Panax quinquefolius* L., тропическое растение раувольфия змеиная *Rauwolfia serpentina* Benth. Позднее *in vitro* были введены штаммы тропического растения полисциаса папоротниколистного *Polyscias filicifolia* (Moore ex Fournier) Bailey и некоторые другие редкие лекарственные растения. В настоящее время в банке клеточных культур находится 17 коллекционных штаммов, в том числе только в СПХФА имеются три ценных селективных штамма, содержащих микроэлемент германий — индуктор гамма-интерферона [10, 12, 16].

Фитотерапия сегодня является неотъемлемой частью комплексного подхода к лечению и профилактике различных заболеваний. Так, в США еще в 1980-е годы

25% всех лекарств, отпускаемых из аптек, включали в себя различные экстракты из растений, а потребители заплатили за эти лекарственные средства (ЛС) природного происхождения 8 млрд. долл. Не менее популярны ЛС природного происхождения и в Европе. Так, например, в реестре ЛС Германии фитопрепараты составляют более 25% и более 50% опрошенных пациентов предпочитают ЛС природного происхождения [7].

Женьшень обыкновенный с древних времен применяется в народной медицине Китая, Кореи, Японии, а в настоящее время перешагнул границы Европы, США и других стран [15]. На отечественном фармацевтическом рынке большим спросом пользуется настойка из этого растения. Экстракт из корня женьшеня в форме капсул, таблеток, сиропов входит в состав многих препаратов и биологически активных добавок (БАД), которые рекомендуются в качестве иммуномодулирующих, адаптогенных и тонизирующих средств [6, 9]. Не меньшей популярностью пользуется в мире и так называемый американский женьшень, или панакс пятилистный. Оба рода *Panax* L. (азиатский и американский) имеют в основном одинаковый профиль гинзенозидов, но содержат их в разном количественном соотношении [17, 18].

Штаммы клеток растений являются прекрасной моделью биосистемы, на которой можно моделировать как новые технологии, так и получать клетки, которых нет в природе. Так, например, в СПХФА впервые *in vitro* были получены клетки женьшеня, которые содержали одновременно биологически активные вещества (БАВ) березы, солодки, календулы и исландского мха [5].

© 2014 г. Слепян Л.И., Каухова И.Е., Солодникова Е.С., Красовицкая И.А.

* Автор для переписки:

Слепян Лариса Ивановна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академии

197376 Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14

E-mail: larisa.slepyan@pharminnotech.com

Штаммы растительных клеток также используются для исследований влияния магнитных полей, а также, например, для оценки экологической и медицинской безопасности в случаях применения различных наноматериалов, в частности, углеродных нанотрубок. [2, 13]. В СПХФА в лаборатории промышленной технологии лекарственных препаратов (ПТЛП) разрабатываются как новые технологии культивирования штаммов — продуцентов БАВ, так и новые методы выделения БАВ с помощью сверхвысокочастотного излучения и УЗ с учетом безопасной экологии и безотходной технологии [3].

Одним из перспективных физических факторов воздействия на штаммы растений является ультразвук. В настоящее время УЗ применяется на различных стадиях культивирования биомассы клеток растений *in vitro*: в период подготовки эксплантов — для повышения эффективности стерилизации, а также на стадии культивирования — в целях увеличения прироста биомассы [4, 8]. Такое влияние ультразвука на рост клеток объясняется его способностью изменять проницаемость мембран и активность некоторых ферментов [11, 14]. Используя методы фитобиотехнологии, в СПХФА проводятся исследования по разработке новых медицинских конструкций и лекарственных форм: трансплантатов, трансдермальных пленок, жевательных конфет, биогелей и шовного материала, содержащих БАВ из биомассы штаммов женьшеня и панакса пятилистного как средств доставки лекарственных препаратов с пролонгированным спектром действия [1].

В стратегическом плане биотехнология как интегральная база экономического развития фармации должна обеспечить реализацию национальных приоритетных проектов с формированием инновационных систем, стимулирование социально-экономического развития регионов и повышение конкурентоспособности государства в условиях глобализации [18]. Таким образом, банк клеток лекарственных растений — это прекрасная модель живой биологической системы, которая может служить базой для инноваций в биотехнологии.

Цель настоящей работы состоит в изучении влияния ультразвука на рост и продукцию водорастворимых экстрактивных веществ (ВЭВ) и полисахаридов (ВРП) в штаммах женьшеня обыкновенного и панакса пятилистного.

Материалы и методы

Материалом для исследований являлись штаммы женьшеня обыкновенного и панакса пятилистного

из коллекции СПХФА. Нативная биомасса штамма женьшеня представляет собой желтовато-кремовое скопление крупнозернистой массы клеток. Внешне биомасса штамма панакса пятилистного схожа с таковой женьшеня, но имеет более мелкозернистую структуру. Оба штамма культивировали в стандартных условиях при температуре 26–28 °С, относительной влажности 70%, в темноте, во флаконах с 70 мл агаризованной питательной среды в соответствии с их паспортами.

В качестве источника УЗ был использован аппарат «Сапфир» (рабочая частота 35 кГц). УЗ-обработку биомассы штаммов проводили в течение 10, 20 и 30 минут на 5-, 7-, 13-, 15-, 20- и 32-е сутки в случае женьшеня, а в случае панакса пятилистного — в течение 20 и 30 минут на 5-, 7-, 13-, 15-, 20- и 25-е сутки. После этого сосуды с биомассой клеток продолжали культивировать в стандартных условиях до 35 суток (женьшень) и 27 суток (панакс).

Для определения оптимального метода экстрагирования водорастворимых экстрактивных веществ и полисахаридов в предварительных опытах было использовано несколько методик:

- В соответствии с Государственной фармакопеей (ГФ 11, т. 1, стр. 259).
- С однократной обработкой биомассы ультразвуком в течение 30 минут в соотношении сырье-экстрагент 1:30, 1:50, 1:60, 1:100 с делением и без деления экстрагента на части.
- С двукратной обработкой УЗ в течение 30 и 15 минут в соотношении сырье-экстрагент 1:30, 1:50, 1:60, 1:100 с делением и без деления экстрагента на части.

Для определения ВРП из полученных в ходе экстрагирования ВЭВ извлечений отбирали аликвоту, упаривали ее до 1/5 объема и осаждали холодным спиртом этиловым [12]

Повторность эксперимента составила три последовательных пассажа. Для определения каждого из исследуемых параметров было отобрано по 7 флаконов. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Prisma.

Результаты

В ходе исследования влияния УЗ на рост биомассы штаммов женьшеня и панакса пятилистного учитывали накопление нативной (рис. 1, 2) и воздушно-сухой (табл. 1) биомассы штаммов в разные периоды культивирования.

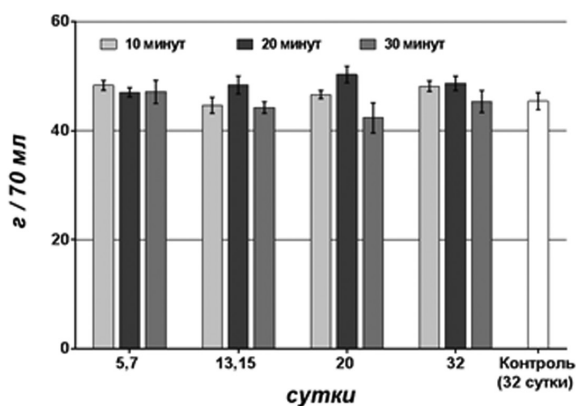


Рис. 1. Показатели роста нативной биомассы штамма женьшеня

При определении накопления нативной биомассы штамма женьшеня (рис. 1) было выявлено, что практически на всех сроках культивирования прирост биомассы при обработке ее УЗ в течение 10 и 20 минут отличался незначительно, но превышал контроль. Положительный эффект обработки УЗ на ранних сроках (5-, 7-е сутки) роста штамма предположительно связан со стимулирующей реакцией клеток на стресс в логарифмическую фазу их роста. Минимальное накопление нативной биомассы наблюдали при обработке ее УЗ в течение 30 минут на 20-е сутки ($m=43,39$ г/70 мл), а максимальное — при обработке УЗ в течение 20 минут на 20-е сутки ($m=50,30$ г/70 мл), что объясняется ростом клеток за счет растяжения и увеличением синтеза метаболитов.

Для штамма панакса пятилистного (рис. 2) были выбраны два контрольных срока — 20 и 25 суток, так как в предварительных опытах было найдено, что на 35-е сутки показатель нативной биомассы (Контр. 3) был равен таковому на 25-е сутки (Контр. 2) культивирования. Было определено, что наибольший прирост биомассы этого штамма наблюдается после обработки ее УЗ в течение 30 минут на ранних сроках (5-, 7-е сутки), в отличие от штамма женьшеня, что свидетельствует о большей адаптационной способности клеток. УЗ-обработка биомассы этого штамма на 13-, 15-е сутки в течение 20 и 30 минут были сопоставимы и превышали контроль. Обработка УЗ на более поздних сроках (25-е сутки) в течение 20 минут приводит к значительному снижению накопления нативной биомассы. Максимальное увеличение биомассы наблюдали при обработке ее УЗ в течение 30 минут на 25-е сутки.

Показатели воздушно-сухой биомассы штамма женьшеня на 5-, 7-е сутки при обработке в течение 20 минут и при обработке УЗ штамма панакса в течение 30 минут практически не отличались, при этом наименьший

показатель наблюдали при обработке штамма женьшеня УЗ в течение 10 минут. В фазу логарифмического роста (13-, 15-е сутки) для женьшеня максимальное накопление воздушно-сухой биомассы выявляли при обработке ее УЗ в течение 10 минут, а для биомассы штамма панакса — в течение 30 и 20 минут, что согласовывалось с показателями роста нативной биомассы этого штамма. При обработке штамма женьшеня на 20-е сутки в течение 20 минут наблюдали наиболее значительный прирост воздушно-сухой биомассы, в то время как в те же сроки культивирования для штамма панакса больший показатель достигался при обработке УЗ в течение 30 минут. В ходе этого эксперимента было также установлено, что использование УЗ-обработки биомассы штаммов позволяет сократить сроки культивирования на 10–15 суток, что делает возможным проведение до 6 дополнительных пересадок в год.

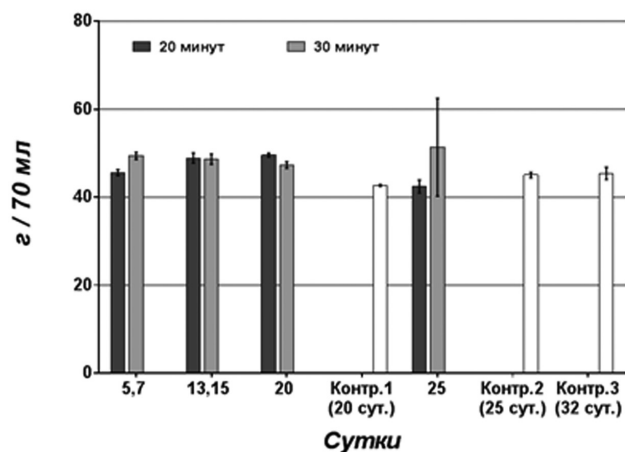


Рис. 2. Показатели роста нативной биомассы штамма панакса пятилистного

Для оценки содержания ВЭВ и ВРП была проведена серия опытов по выявлению оптимальной методики экстрагирования. В результате было найдено, что оптимальной методикой выделения ВЭВ является экстракция биомассы водой, очищенной в соотношении сырье-экстрагент 1:60 при двукратной обработке УЗ в течение 15 минут с делением экстрагента. При экстрагировании по описанной методике значительно сокращалось время экстрагирования (60 мин. — по оптимальной методике по сравнению со 180 мин. — по ГФ), а также изменялась полнота экстракции (с 56,42% — при экстрагировании по оптимальной методике и 47,94% — по ГФ).

В результате определения влияния УЗ на продукцию ВЭВ (табл. 2) клетками штаммов женьшеня и панакса было установлено, что наиболее значительному увеличению содержания ВЭВ на ранних сроках (5-, 7-е

сутки) способствовала обработка УЗ в течение 10 и 20 минут, соответственно. На 13-, 15-е сутки содержание ВЭВ в обоих штаммах было сопоставимо во всех случаях их обработки. При обработке биомассы женьшеня УЗ на 20-е сутки в течение 20 минут накапливалось максимальное количество экстрактивных веществ, в то время как обработка биомассы штамма панакса в

эти же сроки приводила к снижению содержания ВЭВ по сравнению с контрольными сроками. Обработка штамма панакса на более поздних сроках (25-е сутки) приводила к увеличению содержания ВЭВ по сравнению с контролем, что согласовывалось с показателями нативной и воздушно-сухой биомассы для этого штамма (см. рис. 1, 2 и табл. 1).

Таблица 1

Показатели воздушно-сухой биомассы штаммов женьшеня и панакса пятилистного, г/70 мл

Сутки	<i>P. ginseng</i>			Контроль	<i>P. quinquefolius</i>		Контроль
	10*	20*	30*		20*	30*	
5, 7	1,47±0,36	1,66±0,19	1,40±0,11	—	1,50±0,16	1,63±0,25	—
13, 15	1,62±0,12	1,48±0,32	1,38± 0,22	—	1,60±0,21	1,57±0,28	—
20	1,50±0,21	1,97±0,20	1,35±0,11	—	1,50±0,24	1,60±0,11	1,45±0,12
25	—	—	—	—	1,37±0,25	1,47±0,17	1,43±0,15
32	1,49±0,19	1,72±0,16	1,08± 0,13	1,29±0,10	—	—	—

* время обработки УЗ, минуты; «—» измерения не проводили

Таблица 2

Содержание водорастворимых экстрактивных веществ в биомассе штаммов женьшеня обыкновенного и панакса пятилистного, %

Сутки	<i>P. ginseng</i>			Контроль	<i>P. quinquefolius</i>		Контроль
	10*	20*	30*		20*	30*	
5,7	53,2±0,45	50,38±0,36	50,12±0,29	—	53,44±0,41	46,97±0,45	—
13,15	50,45±0,51	49,55±0,41	46,78±0,30	—	48,91±0,39	50,00±0,47	—
20	57,04±0,37	60,48±0,22	43,83±0,41	—	47,2±0,26	48,46±0,44	51,69±0,50
25	—	—	—	—	49,45±0,21	50,05±0,28	46,26±0,52
32	50,1±0,53	50,34±0,32	43,11±0,40	42,18±0,34	—	—	—

* время УЗ-обработки, минуты; «—» измерения не проводили

Содержание ВРП в биомассе штамма женьшеня также варьировало в зависимости от сроков и продолжительности обработки УЗ. Как показано на рисунке 3, обработка УЗ биомассы штамма женьшеня на 5-, 7-е сутки в течение 20 минут приводила к увеличению содержания ВРП. В случае обработки биомассы УЗ в течение 30 минут в эти же сроки содержание ВРП снижалось. Вероятно, последнее связано с тем, что двадцатиминутная обработка ультразвуком является умеренным стресс-фактором и способствует увеличению продукции метаболитов клеткой, в то время как тридцатиминутная обработка биомассы клеток была излишне интенсивной, что приводило к снижению их метаболической активности. С переходом клеток в экс-

понациальную фазу роста (13-, 15-е сутки) обработка УЗ в течение 20 минут приводила к снижению содержания ВРП, а обработка УЗ в течение 30 минут в эти же сроки вызывала повышение содержания ВРП, что, возможно, связано с повышением устойчивости клеток к стрессу к этим срокам. В случае обработки биомассы УЗ на 20-е сутки происходит постепенное возрастание адаптации клеток к воздействию УЗ в течение 20 и 30 минут. При этом достигалось максимальное содержание полисахаридов, показатели которых были сопоставимы с таковыми контрольной группы. Обработка сырья УЗ на 25-е сутки вызывала снижение содержания ВРП, оставаясь при этом все еще выше показателей контроля на конечные сроки культивирования (рис. 3, Контр. 2).

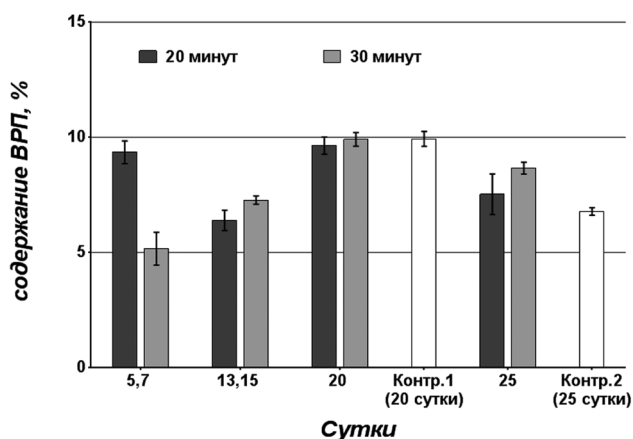


Рис. 3. Содержание водорастворимых полисахаридов в штамме женьшеня

Обработка УЗ в течение 20 и 30 минут сырья штамма панакса пятилистного вызывала постепенное увеличение содержания ВРП с увеличением срока культивирования штамма. Максимальное накопление ВРП достигалось на 25-е сутки при обработке сырья УЗ в течение 20 и 30 минут (рис. 4).

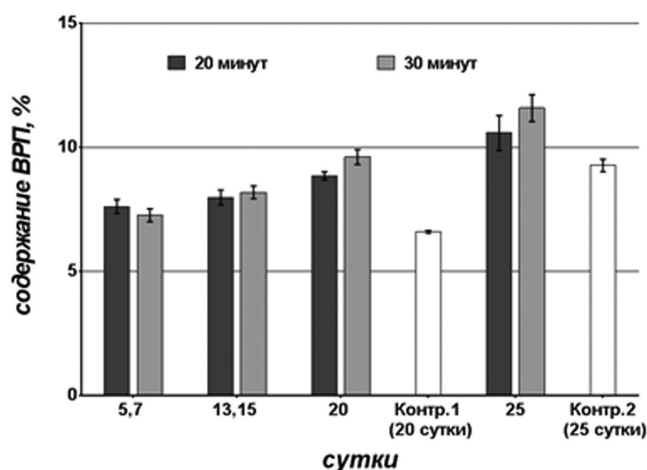


Рис. 4. Содержание водорастворимых полисахаридов в штамме панакса пятилистного

Заключение

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

- Показано положительное влияние УЗ на динамику роста нативной и накопление воздушно-сухой биомассы штаммов женьшеня обыкновенного и панакса пятилистного. Оптимальными режимами для биомассы женьшеня является обработка ее УЗ в течение 20 минут на 20-е сутки и для штамма панакса — в течение 30 минут на 25-е сутки. Обработка штаммов УЗ позволяет сократить время культивирования на 10–15 суток.

- Наиболее эффективна экстракция ВЭВ и ВРП из воздушно-сухой биомассы обоих штаммов при соотношении сырья: экстрагент 1:60, с делением экстрагента на части и двукратной обработкой сырья УЗ в течение 15 минут.

- Применение УЗ позволяет сократить время экстракции в 3 раза. Обработка штамма ультразвуком способствует увеличению содержания ВЭВ и ВРП и повышает экономическую эффективность метода.

Литература

1. Васильев Р.Г. Биоэкономика как следующий шаг развития — шанс России // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. — 2008. — Т.4 — № 1. — С. 28–32.
2. Громова О.Н. Разработка технологии получения водных извлечений из биомассы *Panax ginseng* C.A. Meу. (Araliaceae) / Материалы ежегодной конференции «Фармация и общественное здоровье». — Екатеринбург, 2010. — С. 227–230.
3. Косолапова А.С. Исследование влияния ультразвука на отдельные стадии в технологии культуры растительных клеток и тканей *in vitro*. 11. Образование каллуса и его размножение // Химия растительного сырья. — 2009. — № 3. — С. 189–190.
4. Косолапова А.С., Ламберова М.Э. Исследование влияния ультразвука на отдельные стадии в технологии культуры растительных клеток и тканей *in vitro*. 1. Стерилизация эксплантов // Химия растительного сырья. — 2010. — № 2. — С. 179–180.
5. Кузьмина Н.С., Стрелкова М.А., Слепян Л.И., Кириллова Н.В. Исследование влияния воздействия магнитного поля на штаммы растений семейства *Araliaceae* / Сб. научн. тр. «Достижения и проблемы генетики, селекции и биотехнологии, посвященные 125-летию со дня рожд. Н.И. Вавилова». — Киев: Изд. ЛОГОС., 2012. — Т. 4. — С. 552–555.
6. Лесиовская Е.Е. Многоликий женьшень на фармацевтическом рынке // REMEDIUM. — 1998. — № 7. — С. 52–55.
7. Мироненко Т.А. Аптечный ассортимент: Фитопрепараты. — Новая аптека, 2000. — С. 50–53.
8. Папихина В.Р., Муратова С.А. Влияние ультразвукового излучения на каллусообразование и морфогенез в культуре растительных тканей *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. — 2011. — Т. 26. — С. 179–185.
9. Патент на изобретение РФ. № 2131924 от 16.12.1997. Способ получения биомассы женьшеня. Яковлев Г.П., Галынкин В.А., Слепян Л.И. и др.
10. Слепян Л.И., Каухова И.Е., Кириллова Н.В., Громова О.Н., Пивоварова Н.С. Штаммы лекарственных расте-

- ний — модель инновационных фитобиотехнологий / Сб. тез. X Межд. конф. «Биология клеток растений in vitro и биотехнология», Казань, 14–18 октября 2013 г. — Казань, 2013. — С. 383–384.
11. Слепян Л.И., Громова О.Н., Басевич А.В., Пивоварова Н.С. Новые технологии лекарственных средств на основе клеточных культур / VII Моск. межд. конф. «Биотехнология состояния и перспективы развития», Москва, 19–20.03.2013. — М., 2013. — Часть 1. — С. 269–270.
 12. Слепян Л.И., Каухова И.Е., Горомова О.Н. и др. Роль банков лекарственных растений в биотехнологии и фармации // Биосфера. — 2012. — Т. 4. — № 2. — С. 142–149.
 13. Слепян Л.И., Каухова И.Е., Громова О.Н. и др. Оценка безопасности углеродных нанотрубок при культивировании штамма клеток женьшеня / Сб. тр. 9-й Межд. научно-практ. конф. «Исследование, разработка и применение высоких технологий в промышленности», Санкт-Петербург, 22–23.04.2010. — СПб., 2010. — Т. 1. — С. 426–431.
 14. Хмелев В.Н., Сливин А.Н., Барсуков Р.В., Цыганок С.Н., Шелунов А.В. Применение ультразвука высокой интенсивности в промышленности. Курс лекций. — Изд.: Алтайский государственный технологический университет, 2010. — С. 180.
 15. Bailey W.G. The world of ginseng / The Proceedings of the 1st European Ginseng Congress. Ed. Y. Ch. Weber. Marburg, 06–11.12.1998. — P. 15–35.
 16. Bespalov V.G., V.A. Alexandrov V.A., A.Y. Limarenko A.Y. Chemoprevention of mammary, cervix and nervous system carcinogenesis in animals using cultured *Panax ginseng* drugs and preliminary clinical trials in patients with precancerous lesions of the esophagus and endometrium // J. of Korean Med. Science. — 2001. — Vol. 16(Suppl). — S42–S53.
 17. Popovich D.G., Chia-Rou Yeo, Wei Zhang. Ginsenosides derived from Asian (*Panax ginseng*) and American Ginseng (*Panax quinquefolius*) and potential cytoactivity // Int. J. of Biomedical and Pharmaceutical Sciences. — 2012. — Vol. 6 (Special Issue 1). — P. 56–62.
 18. Seida J.K., Durec T., Kuhle S. North American (*Panax quinquefolius*) and Asian ginseng (*Panax ginseng*) preparation for prevention of the common cold in healthy adults: A systematic review // Evid. Based Complement Alternat. Med. — 2009. — Vol. 2011. — Article ID 282151. — 7 p.

ULTRASOUND EFFECTS ON GROWTH AND METABOLISM OF ACTIVE COMPOUNDS IN STRAINS OF *PANAX GINSENG* C.A. MEY. AND *PANAX QUINQUEFOLIUS* L. (ARALIACEAE)

L.I. SLEPYAN, I.E. KAUKHOVA, E.S. SOLODNIKOVA, I.A. KRASOVITSKAYA.

State Chemical-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg

Ultrasound effects on growth and metabolism of active compounds of the strains of *Panax ginseng* C.A. Mey. and *P. quinquefolius* L. was different during various cultivation periods. The best results in application of ultrasound during the cultivation for the strain of *P. ginseng* were obtained on the 20th day with 20 minute application period and for the strain of *P. quinquefolius* — on the 25th day with 30 minute application period. Ultrasound enables to shorten cultivation time for 10–15 days and to optimize extraction of water-soluble extractive compounds.

Keywords: *Panax ginseng* C.A. Mey., *Panax quinquefolius* L., strains, growth, water-soluble extractives, ultrasound.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ СХЕМЫ КОМБИНИРОВАННОГО ТЕПЛО- И ЭЛЕКТРОСНАБЖЕНИЯ ТЕПЛИЧНОГО ХОЗЯЙСТВА ПАРОВЫМ КОТЛОМ И ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ ЭНЕРГОУСТАНОВКОЙ НА БАЗЕ ТВЕРДООКСИДНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ, РАБОТАЮЩИХ НА БИОГАЗЕ ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ

Н.В. КОРОВИН¹, Г.Н. ВОЛОЩЕНКО², А.В. БОРГОЛОВ^{2*}

¹ ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский университет — Московский энергетический институт»,

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

Обзор с использованием собственных данных. В статье обсуждаются перспективы применения биогаза, полученного из растительных отходов, в качестве топлива для твердооксидных топливных элементов с целью выработки тепловой и электрической энергии для нужд тепличного хозяйства. На основе анализа данных литературы предлагается собственное решение проблемы, главной идеей которого служит возможность применения отходов тепличного хозяйства как сырья для получения биогаза с последующим его использованием в виде топлива в когенерационной установке на базе твердооксидных топливных элементов.

Ключевые слова: биотопливо, биогаз, твердооксидные топливные элементы, растительные отходы.

Введение

Сложная экологическая ситуация, увеличение населения Земли, обостряющийся продовольственный кризис, снижение запасов традиционного топлива на фоне постоянного роста цен на энергоносители — все эти факторы обуславливают более пристальное внимание исследователей к применению в производстве сельскохозяйственной продукции высокоэффективных технологий когенерации с использованием возобновляемых источников энергии, в частности, энергии биомассы [3, 5, 6].

Одним из наиболее перспективных направлений развития биоэнергетики является развитие биогазовых технологий [2, 8]. В представляемой статье рассматривается возможность применения отходов тепличного хозяйства как сырья для получения биогаза с последующим его использованием в качестве топлива в когенерационной установке на базе твердооксидных топливных элементов (ТОТЭ) [4].

Накоплен довольно обширный объем материала по использованию биогаза в твердооксидных топливных элементах как с внешней, так и с внутренней конверсией с использованием различных источников биогаза (сточные воды, отходы сельского хозяйства, свалки твердых бытовых отходов — ТБО) [9–12, 14–21]. Авторами этих исследований были изучены различные варианты подготовки биогаза для подачи в топливный элемент (паровая, углекислотная, парциальное окисление кислородом) и проведен анализ энергетической и экономической эффективности применения того или иного типа конверсии, а также влияния каталитических ядов на стабильность работы риформера и ТОТЭ. Особое внимание авторами уделялось проблеме углекислотной конверсии и отложения углерода на катализаторе конверсии. Среди исследований по разработке катализаторов, устойчивых к «зауглероживанию», следует отметить сообщения [1, 13].

Авторское решение проблемы

В настоящей статье рассматриваются перспективы применения биогаза, полученного из растительных отходов, в качестве топлива для ТОТЭ с целью выработки тепловой и электрической энергии для нужд тепличного хозяйства. Исходя из анализа имеющейся литературы по получению биогаза из растительного сырья [7, 8],

© 2014 г. Коровин Н.В., Волощенко Г.Н., Борголов А.В.

* Автор для переписки:

Борголов А.В.

НИЦ «Курчатовский институт», НТК биоэнергетики
123182 Москва, пл. Академика Курчатова, 1

Изображенная схема требует пояснения. Биогаз, полученный в метантенке 1 из органических отходов (преимущественно отходы теплицы), направляется в газгольдер 2, где происходит накопление и выравнивание давления биогаза. Из газгольдера под избыточным давлением биогаз направляется в парогазовый котел 3 и абсорбер 4, причем подача биогаза регулируется соответствующими газовыми клапанами в зависимости от потребности тепличного хозяйства в тепле или освещении. В абсорбере 4 на оксидножелезном или оксидноцинковом катализаторе происходит абсорбция из биогаза сероводорода до концентрации менее 1 ppm, так как он является каталитическим ядом. После удаления серосодержащих веществ биогаз подается в конвертер, в котором он смешивается с перегретым паром из котла 3, работающего на биогазе. При этом необходим подвод дополнительной теплоты в конвертер для нагрева смеси до температуры конверсии. Эта теплота подводится либо от сжигания в конвертере биогаза, либо от утилизации тепла отходящих от ТОТЭ катодных газов. После проведения реакции конверсии смеси биогаза с водяным паром образуется синтез-газ, который направляется в шифт-реактор 6 для обогащения смеси водородом на оксидном медноцинковом катализаторе. Данная реакция проводится при температуре 450–600 К. Таким образом, обогащенная водородом смесь направляется в анодную камеру электрохимической энергетической установки на твердооксидных топливных элементах, в которой происходит окисление водородного топлива. При этом воздух перед подачей в катодную камеру ЭЭУ ТОТЭ последовательно нагревается отходящими газами от котла 3, теплом — от шифт-реактора 6 и теплотой — от конденсатора-теплообменника 8. При окислении водорода в топливном элементе вырабатывается тепло и постоянный электрический ток, который в инверторе превращается в переменный ток для освещения теплицы. Отходящие катодные газы идут в конвертер 5 для догрева смеси до температуры конверсии и на выходе отработанный воздух, обедненный кислородом, идет на регенерацию оксидноцинкового катализатора. Анодные газы из анодной камеры поступают на дожигатель 15, где дожигается неокисленное в топливных элементах (ТЭ) топливо, после чего смесь водяного пара и углекислого газа разделяется в конденсаторе-теплообменнике 8. Вода после отделения от углекислого газа подается на конверсию через тракт, идущий от котла 3 в конвертер 5. Углекислый газ поступает в теплицу для поглощения его растениями с целью увеличения урожая, причем концентрация углекислого газа регулируется датчиком

концентрации CO_2 в теплице, связанным с газовым клапаном 16. При превышении предельной концентрации CO_2 в теплице на клапан от датчика поступает сигнал к закрытию, и избыточный углекислый газ стравливается в атмосферу. За счет использования дополнительного освещения происходит активное поглощение углекислого газа в процессе фотосинтеза, что в сочетании с использованием высокоэффективного удобрения из метантенка 1, подмешиваемого в смесителе 13 в воду для подпочвенного полива, приводит к увеличению урожайности и скорости созревания тепличной культуры. Отходы тепличной культуры после измельчения в измельчителе 10 поступают на анаэробное сбраживание в метантенк 1. Отопление теплицы 9 и метантенка 1 осуществляется за счет прокачки горячей воды насосами 12 через отопительные контуры, связанные с котлом 3. Данная схема имеет хорошую степень защиты от сбоя в электро- и теплоснабжении, так как позволяет использовать дополнительные органические отходы (навоз с ферм, помет с птицефабрик и т.п.) и позволяет применять сетевой природный газ в качестве резервного источника энергии. Важно отметить, что при реализации данного процесса происходит утилизация значительного количества парниковых газов (CO_2 и CH_4) и повышается эффективность производства сельскохозяйственной продукции.

Рассмотрим два варианта конверсии биогаза: в первом случае проводится совмещенная паро-углекислотная конверсия на Ni-Co катализаторе, а во втором случае — углекислотная конверсия с последующей паровой конверсией остаточного метана на том же катализаторе. Сравнение этих вариантов приведено в таблице 1.

Таблица 1

Сравнение вариантов конверсии биогаза

Показатель	Паро-углекислотная конверсия	Углекислотная и последующая паровая конверсия
Объем реактора	X	2x
Количество катализатора	Y	2y
Объем подводимой теплоты	Z	2z
Общие теплотопотери	Меньше	Больше

Как видно из данных таблицы 1, наиболее рациональным является использование совмещенной паро-углекислотной конверсии как с точки зрения экономической целесообразности, так и с точки зрения энергетической эффективности.

Перейдем к анализу паро-углекислотной конверсии метана как сочетания паровой и углекислотной конверсии (одновременно идет конверсия метана паром и углекислым газом). Для проведения паро-углекислотной конверсии необходимо количество пара в 2–2,5 раза большее количества метана. Исходные данные (для расчета взято 100 моль биогаза) представлены в таблице 2.

Таблица 2

Исходный состав смеси

Компонент	Количество вещества, моль	% мольные	Относительное парциальное давление
CH ₄	60	24	0,24
CO ₂	40	16	0,16
H ₂ O	150	60	0,6

Константа равновесия K_p реакции $jA + kB = lC + mD$, выраженная через равновесные концентрации веществ $n_{равн}$, выглядит следующим образом:

$$K_p = \frac{n_{C,равн}^l \times n_{D,равн}^m}{n_{A,равн}^j \times n_{B,равн}^k} \times \left(\frac{P_0}{\sum n_i} \right)^{\Delta\nu} \quad (3)$$

где P_0 – общее давление, атм;

$\sum n_i$ – сумма молей исходных веществ и продуктов реакции,

$\Delta\nu$ – изменение количества молей в ходе реакции.

Отсюда K_{p1} – углекислотная конверсия, K_{p2} – паровая конверсия:

$$K_{p1} = \frac{n_{H_2,равн}^2 \times n_{CO,равн}^2}{n_{CH_4,равн} \times n_{CO_2,равн}} \times \left(\frac{P_0}{\sum n_i} \right)^2 \quad (4)$$

$$K_{p2} = \frac{n_{H_2,равн}^3 \times n_{CO,равн}^2}{n_{CH_4,равн} \times n_{H_2O,равн}} \times \left(\frac{P_0}{\sum n_i} \right)^2 \quad (5)$$

В таблице 3 представлен расчет состава равновесной смеси.

Таблица 3

Расчет состава равновесной смеси

Компонент	Исходный состав, моль	Прореагировало, моль	Равновесный состав, моль
CH ₄	60	x+y	60-(x+y)
CO ₂	40	x	40-x
H ₂ O	150	y	150-y
CO	0	2x+y	2x+y
H ₂	0	2x+3y	2x+3y

Составим систему уравнений, подставив соответствующие величины констант равновесия и количества вещества при температуре конверсии 1173 К:

$$\begin{cases} \frac{(2x+3y)^2(2x+y)^2}{(40-x)(60-x-y)} \times \left(\frac{1}{2x+2y+250} \right)^2 = 238,5 \\ \frac{(2x+3y)^3(2x+y)}{(150-y)(60-x-y)} \times \left(\frac{1}{2x+2y+250} \right)^2 = 104,4 \end{cases} \quad (6)$$

Решая полученную систему уравнений, получаем $x=17,49$, $y=42,29$. Соответственно:

$$\begin{aligned} n_{CH_4, равн} &= 0,22 \text{ моль (0,06\%)} \\ n_{CO_2, равн} &= 22,51 \text{ моль (6,09\%)} \\ n_{H_2O, равн} &= 107,71 \text{ моль (29,15\%)} \\ n_{H_2, равн} &= 161,85 \text{ моль (43,80\%)} \\ n_{CO, равн} &= 77,27 \text{ моль (20,91\%)} \end{aligned}$$

Полученный влажный конвертированный газ для обогащения водородом направляется в шифт-реактор, где полученная смесь охлаждается до 450–600 К и конвертируется на окисных медноцинковых катализаторах. Обогащение смеси водородом необходимо для достижения большей плотности тока в топливном элементе, так как скорость электроокисления СО гораздо меньше скорости электроокисления H₂.

Таким образом, в топливный элемент поступает смесь состава (при условии 100% конверсии СО в шифт-реакторе):

$$\begin{aligned} n_{CH_4, равн} &= 0,22 \text{ моль (0,06\%)} \\ n_{CO_2, равн} &= 22,51 + 77,27 = 99,78 \text{ моль (27\%)} \\ n_{H_2O, равн} &= 107,71 - 77,27 = 30,44 \text{ моль (8,24\%)} \\ n_{H_2, равн} &= 161,85 + 77,27 = 239,12 \text{ моль (64,7\%)} \end{aligned}$$

Следует иметь в виду, что в шифт-реакторе при проведении реакции сдвига (экзотермическая реакция)

выделяется некоторое количество теплоты, которое можно использовать для нагрева смеси до рабочей температуры топливного элемента.

Исходя из этих данных, можно рассчитать, сколько электроэнергии выделится в топливном элементе: при электроокислении 1 моль H_2 (2 моль-экв) получаем 2 моль-экв $\times 26,8 \text{ А}\cdot\text{ч}/\text{моль-экв} = 53,4 \text{ А}\cdot\text{ч}$. Соответственно при окислении 239,12 моль H_2 при степени использования топлива 85% и напряжении 0,7 В получим:

$$Q_{\text{эл}} = 239,12 \times 53,4 \times 0,85 \times 0,7 = 7597,56 \text{ Вт}\cdot\text{ч} \approx 7,6 \text{ кВт}\cdot\text{ч} \text{ электроэнергии} \quad (7)$$

Отсюда можно составить пропорцию для расчета количества электрической энергии, получаемой из заданного количества биогаза: 100 моль или 2,24 м³ биогаза позволяют получить в топливном элементе 7,6 кВт·ч электроэнергии. Соответственно из 1000 м³ биогаза вырабатывается $\approx 3,4 \text{ МВт}\cdot\text{ч}$ электроэнергии.

Для сравнения: при использовании газопоршневой станции с КПД 40% вырабатывается $600 \text{ м}^3 \times 35,83 \text{ МДж}/\text{м}^3 \times 0,4/3600 \text{ с} \approx 2,4 \text{ МВт}\cdot\text{ч}$ электроэнергии. Разница составляет 1 МВт·ч.

Теперь рассчитаем количество теплоты, выделяющейся в ТОТЭ при окислении 1000 м³ биогаза.

Теплота, генерируемая в топливном элементе при окислении 1 моль топлива (при отсутствии побочных реакций), определяется по формуле:

$$Q_{\text{ТЭ}} = -\Delta H - nFU \quad (8)$$

Следовательно,

$$Q_{\text{ТЭ}} = -(-241800) - 2 \cdot 96500 \cdot 0,7 = 106700 \text{ Дж}/\text{моль} = 106,7 \text{ кДж}/\text{моль}.$$

Соответственно при окислении 239,12 моль водорода или 100 моль биогаза выделяется

$$106,7 \cdot 239,12 = 25,51 \text{ МДж теплоты}.$$

Значит, при окислении 1000 м³ биогаза получаем $25,51 \cdot 1000/2,24 = 11,4 \text{ ГДж}$ высокопотенциальной теплоты.

В таблице 4 приведено сравнение КПД газопоршневой установки и ЭЭУ ТОТЭ.

Таблица 4

КПД газопоршневой установки и ЭЭУ ТОТЭ

Показатель	ЭЭУ ТОТЭ	Газопоршневая установка
КПД, электрический	52%	40%
КПД, тепловой	46%	50%
КПД, когенерации	98%	90%

Заключение

Разработанная технологическая схема обладает следующими преимуществами:

- Утилизация органических отходов и снижение выбросов парниковых газов.
- Возможность собирать повышенный урожай при сокращении периода созревания за счет дополнительного освещения, применения органических удобрений и подкормки углекислым газом.
- Возможность использования дополнительных источников энергии (природный газ, отходы ферм и скотобоен).

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы». Государственный контракт № 16.526.11.6009 от 28 октября 2011 г.

Литература

1. Аркатова Л.А., Харламова Т.С., Галактионова Л.В., Курина Л.Н., Найбороденко Ю.С., Касацкий Н.Г., Голобоков Н.Н. CO_2 риформинг метана на катализаторах интерметаллидах, полученных методом СВС // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – № 11. – С. 23–24.
2. Баадер В., Доне Е., Бренндерфер М. Биогаз. Теория и практика / Пер. с нем. М.И. Серебряного. – Издательство «Колос», 1982.
3. Беляков В.С., Сазонов Д.Г. Широкий международный опыт применения когенерационных установок в теплицах для отопления и активизации роста растений необходимо активнее применять в России // Турбины и Дизели. – 2006. – № 5 (Сентябрь-Октябрь). – С. 34–39.
4. Коровин Н.В. Топливные элементы и электрохимические энергоустановки. – М: Издательство МЭИ, 2005.
5. Кудинов А.А. Патент РФ №2167512 от 20.08.1997 «Установка для отопления теплицы».
6. Кудинов А.А., Калмыков М.В., Левушкина Ю.В. Патент РФ №2087094 от 27.05.2001 «Установка для отопления теплицы».
7. Федоренко В.Ф., Буклагин Д.С., Мишуев Н.П., Тихонравов В.С. Развитие биоэнергетики, экологическая и продовольственная безопасность. – М.: ФГНУ «Росинформротех», 2009.
8. Эдер Б., Шульц Х. Биогазовые установки. Практическое пособие / Пер. с нем. компания ZorgBiogas 2008 г. – 1996.

9. Duerr M., Gair S., Cruden A., McDonald J. Hydrogen and electrical energy from organic waste treatment // International Journal of Hydrogen Energy. – 2007. – Vol. 32. – P. 705–709.
10. Farhad S., Yoo Y., Hamdullahpur F. Effects of fuel processing methods on industrial scale biogas-fuelled solid oxide fuel cell system for operating in wastewater treatment plants // Journal of Power Sources. – 2010. – Vol. 195. – P. 1446–1453.
11. Gair S., Cruden A., McDonald J., Hegarty T., Chesshire M. Fuel cells for power generation and waste treatment // Journal of Power Sources. – 2006. – Vol. 154. – P. 472–478.
12. Goula G., Kiouisis V., Nalbandian L., Yentekakis I.V. Catalytic and electrocatalytic behavior of Ni-based cermet anodes under internal dry reforming of CH₄+CO₂ mixtures in SOFCs // SolidStateIonics. – 2006. – Vol. 177. – P. 2119–2123.
13. Iyer M.V., Norcio L.P., Kugler E.L., Dadyburjor D.B. Kinetic modeling for methane reforming with carbon dioxide over a mixed-metal carbide catalyst // Ind. Eng. Chem. Res. – 2003. – Vol. 42. – P. 2712–2721.
14. Leonea P., Lanzini A., Santarelli M., Cali M., Sagnelli F., Boulanger A., Scaletta A., Zitella P. Methane-free biogas for direct feeding of solid oxide fuel cells // Journal of Power Sources. – 2010. – Vol. 195. – P. 239–248.
15. Piroonlerkgul P., Wiyaratn W., Soottitantawat A., Kiatkittipong W., Arpornwichanop A., Laosiripojana N., Assabumrungrat S. Operation viability and performance of solid oxide fuel cell fuelled by different feeds // Chemical Engineering Journal. – 2009. – Vol. 155. – P. 411–418.
16. Shiratori Y., Oshima T., Sasaki K. Feasibility of direct-biogas SOFC // International Journal of Hydrogen Energy. – 2008. – Vol. 33. – P. 6316–6321.
17. Shiratori Y., Ijichi T., Oshima T., Sasaki K. Internal reforming SOFC running on biogas // International Journal of Hydrogen Energy. – 2010. – Vol. 33. – P. 7905–7912.
18. Shiratori Y., Sasaki K. NiO–ScSZ and Ni_{0.9}Mg_{0.1}O–ScSZ-based anodes under internal dry reforming of simulated biogas mixtures // Journal of Power Sources. – 2008. – Vol. 180. – P. 738–741.
19. Vakouftsi E., Marnellos G.E., Athanasiou C., Coutelieris F. CFD modeling of a biogas fuelled SOFC // Solid State Ionics. – 2011. – Vol. 192(1). – P. 458–463.
20. Van Herle J., Membréz Y., Bucheli O. Biogas as a fuel source for SOFC co-generators // Journal of Power Sources. – 2004. – Vol. 127. – P. 300–312.
21. Yentekakis I.V., Papadam T., Goula G. Electricity production from wastewater treatment via a novel biogas-SOFC aided process // Solid State Ionics. – 2008. – Vol. 179. – P. 1521–1525.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGICAL SCHEMES OF THE COMBINED HEAT AND POWER STEAM BOILER GREENHOUSE AGRICULTURE AND ELECTROCHEMICAL POWER PLANT BASED ON SOLID OXIDE FUEL CELLS OPERATING ON BIOGAS FROM PLANT WASTE

N.V. KOROVIN¹, G.N. VOLOSCHENKO², A.V. BORGOLOV²

¹ National Research University – Moscow Power Engineering Institute

² National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow

Overview of the consideration of their own data. The article discusses the prospects of using biogas produced from plant waste as a fuel for solid oxide fuel cells for the purpose of thermal and electric energy for greenhouse agriculture. On the basis of analysis of the literature offers its own solution to the problem, the main idea of which is the possibility of using of hothouse waste as a raw materials for biogas production with its subsequent use as a fuel in a cogeneration power plant based on solid oxide fuel cells.

Keywords: biofuels, biogas, solid oxide fuel cells, vegetable waste.

ТЕХНОЛОГИЯ ВЕРМИФИЛЬТРАЦИИ – ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД ОЧИСТКИ БЫТОВЫХ И ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД. ОБЗОР

И.Н. ТИТОВ^{1*}, ФАРЗАХ ФАВАЗ САЛИМ ФАТАХ¹, Н.П. ЛАРИОНОВ¹, В.М. КАН²

¹ Владимирский государственный университет, Владимир, Россия;

² Институт почвоведения и агрохимии им. У.У. Успанова МСХ РК, Алматы, Республика Казахстан

Представлен обзор последних данных об использовании технологии вермифильтрации для очистки бытовых и промышленных сточных вод. Вермикультура в составе вермифилтра при совместном взаимодействии с почвенными микроорганизмами, иммобилизованными на биофилтре, способна в результате механизмов поглощения и биодеградациии удалять из сточных вод органические и неорганические загрязнители по таким важнейшим показателям качества воды, как биохимическое потребление кислорода (БПК₅), более чем на 90%, химическое потребление кислорода (ХПК) – на 80–90%, растворенные вещества – на 90–92% и взвешенные вещества – на 90–95%. Метод пока распространен в странах с теплым климатом, однако имеются перспективы его внедрения и в России.

Ключевые слова: биотехнология, биодеградация, вермифильтрация, бытовые и промышленные сточные воды.

Введение

В настоящее время в России практически на всей территории страны отмечается недостаток водных ресурсов и загрязнение водных источников. Согласно рекомендациям Комитета ООН по водным ресурсам, необходимо снизить уровни забора воды из возобновляемых источников (реки, озера и т.д.), а потребность в пресной воде частично обеспечивать путем ее рециркуляции. Все более актуальной проблемой становится повторное использование воды для ирригации и технических нужд.

Среди применяемых современных систем очистки сточных вод самое значительное место занимают биологические методы. Основную проблему методов биологической очистки сточных вод представляет повышенная техногенная нагрузка на окружающую среду за счет образующихся больших объемов активного ила. Это ведет к необходимости его переработки и хранения, строительства полигонов для захоронения осадков. Другой проблемой является выброс вредных веществ. Необходимость постоянного удаления вторичных загрязнений: сырого осадка из первичных отстойников и

избыточного активного ила из вторичных отстойников не позволяет создать замкнутый технологический цикл очистки сточных вод.

Широко используются способы, включающие в себя два этапа – механическую и биологическую очистку. К недостаткам этого способа относятся:

- образование вторичных загрязнений в виде сырого осадка в первичных отстойниках на первом этапе;
- большие объемы избыточно активного ила, образующегося в процессе биологической очистки (вторичное загрязнение).

Новая технология, в частности, биологическая очистка сточных вод с помощью вермифильтрации с использованием дождевых червей, лишена всех вышеуказанных недостатков и может быть использована в коммунальном хозяйстве городов, поселков и различных отраслях промышленности и сельского хозяйства для очистки бытовых и промышленных сточных вод, содержащих биологически разлагаемые вещества. С помощью технологии вермифильтрации возможно быстро, рентабельно и экологически безопасно осуществлять очистку бытовых, сельскохозяйственных и некоторых промышленных сточных вод без образования ила и осадков сточных вод, без выделения запахов и парниковых газов при 100%-ной регенерации воды (Титов И.Н., 2012 [3]; Aguilera M.L., 2003 [6]; Bouche M.B., Soto P., 2004 [9]; Sinha R.K., Valani D., 2011 [28]).

Впервые профессор Рой Хартенштайн и сотрудники в 1984 году показали, что дождевые (компостные) черви вида *Eisenia fetida* и африканский ночной выползок

© 2014 г. Титов И.Н., Фарзах Фаваз Салим Фатах, Ларионов Н.П., Кан В.М.

* Автор для переписки:

Титов Игорь Николаевич

к.б.н., ст.н.с., доцент кафедры,

БЭСТ, Институт инновационных технологий, Владимирский

госуниверситет

E-mail: tit42@mail.ru

Eudrillus eugeniae могут успешно использоваться в составе капельных биофильтров, что существенно улучшало эффективность их работы при очистке сточных вод (Hartenstein R. et al., 1984) [12].

Сейчас для очистки сточных вод (бытовых и промышленных) в некоторых странах мира успешно используется биотехнология вермифильтрации. Эта технология была разработана профессором Хосе Тоха (Jose Toha) в 1992 году в Чили. В последние годы эта новая технология вермифильтрации усиленно внедряется в практику очистки сточных вод в ряде стран мира: Чили, Индии, Китае, Мексике, Австралии, Бразилии и Венесуэле [28], а в европейских странах — только во Франции и Португалии.

Вермифильтрация — основы технологии

Технология вермифильтрации является новым биологическим методом очистки сточных вод, в котором удачно сочетаются два процесса: традиционный процесс биофильтрации с вермикомпостированием, то есть совместное использование аэробных микроорганизмов и дождевых червей в составе вермифилтра. Известные типы технологии биофильтрации — капельные и дисковые биофильтры — являются высоко энергетически затратными, дорогостоящими в установке и обслуживании. Основным недостатком технологии биофильтрации при очистке сточных вод представляется заиливание системы, в связи с этим уменьшается удельная площадь поверхности биофилтра и ухудшается, как правило, очистка сточных вод. Добавление в систему биофилтра верхнего фильтрующего слоя субстрата, содержащего популяцию дождевых червей (вермифилтр), устраняет этот недостаток. Дождевые черви способны работать, как «биофильтры», так как они поглощают органические и неорганические вещества из сточных вод, в том числе и илистую фракцию сточных вод, переваривают их и выделяют в виде своих экскрементов (копролитов) в верхний слой системы. Более того, выделенные в верхний слой вермифилтра копролиты дождевых червей представляют собой гранулы, обладающие водопрочностью, и поэтому верхний слой вермифилтрационной установки не заиливается, обладает хорошей фильтрующей способностью для жидкой фазы сточных вод и может работать продолжительное время. Затем жидкая фракция поступает в нижележащие фильтрующие слои биофилтра, которые обрастают биопленкой из аэробных микроорганизмов, осуществляющих окончательную очистку сточных вод.

При такой переработке сточных вод происходит более полная утилизация органических и неорганических

веществ, находящихся в сточных водах, их дезинфекция и детоксикация. При этом технология вермифильтрации позволяет получать из сточных вод три полезных конечных продукта:

- вермикомпост (органическое высокогумусированное удобрение);
- биомасса дождевых червей (сырье для кормовой и фармацевтической промышленности);
- очищенная вода, которая может повторно использоваться для ирригации и других технических целей.

Системы вермифильтрации

Система вермифильтрации для очистки сточных вод не требует сложного и дорогостоящего оборудования. Сама установка может представлять собой какую-нибудь емкость, в которой основной объем (до 90%) занимает биофилтр. Над этим биофилтром на сетке помещается слой садовой земли (до 10%), в котором обитают дождевые или компостные черви (вермифилтр). Для удаления твердой фракции сточные воды после прохождения через сито поступают в накопительную емкость, из которой поток сточных вод постепенно с определенной скоростью подается через форсунки на поверхность вермифилтра. Эта жидкость просачивается под действием силы тяжести через слой вермифилтра, затем через слои биофилтра и, наконец, очищенная вода собирается на дне устройства и удаляется из установки.

Биологический филтр — это установка для очистки сточных вод, заполненная загрузочным материалом, через который фильтруется сточная вода и на поверхности которого развивается биологическая пленка, образованная при колонизации микроорганизмами. Основой биофилтра могут быть различные материалы-носители для биопленок: древесные стружки, опилки и измельченная кора деревьев, крупный песок, керамзит, щебень, гравий, кокс, а также пористые материалы (шлак, пемза) плотностью 500—1500 кг/м³ и пористостью 40—50%, кольца Рашига или пластиковые элементы.

Синха с сотрудниками (Sinha R.K. et al., 2008) [25] изучали вермифильтрацию муниципальных сточных вод очистных сооружений Оксли пригорода Брисбейна (Австралия). Такая система вермифильтрации с использованием дождевых червей в составе вермифилтра при совместном взаимодействии почвенных микроорганизмов и микроорганизмов, иммобилизованных на материалах-носителях биофилтра, способна в результате различных механизмов поглощения, биодеградации и окисления

эффективно удалять из сточных вод органические и неорганические загрязнители по таким важнейшим показателям качества воды, как БПК₅, более чем на 90%, ХПК — на 80–90%, растворенные вещества — на 90–92% и взвешенные вещества — на 90–95%.

Установка по вермифильтрации содержала около 30–40 кг гравия со слоем садовой почвы наверху. Этот слой почвы сформировал слой вермифилтра. Установка имеет поддон для сбора фильтрованной воды на дне в камере, который снабжен краном для удаления жидкости. Над камерой имеется проволочная сетка для поддержания слоев гравия. На нее помещают слой гравия размером около 7,5 см, высотой до 25 см. Следующий слой толщиной 25 см состоял из гравия размером 3,5–4,5 см. Третий слой содержал мелкий гравий размером 10–12 мм, смешанный с песком, и имел высоту до 20 см. Самый верхний слой установки представлял собой 10-сантиметровый слой садовой почвы. В него заселяли предварительно популяцию дождевых червей. В качестве вермикультуры была использована смесь трех видов дождевых червей *Eisenia fetida*, *Perionix excavatus* и *Eudrilus euginae*. После заселения популяции дождевых червей необходимо дать время в течение одной-двух недель для акклиматизации в новой среде. Так как дождевые черви играют важную роль в очистке сточных вод, то их количество и плотность популяции (биомасса) в субстрате, зрелость и здоровье являются важными факторами. В данных экспериментах стартовая популяция составляла 500 особей/0,025 м³, что было эквивалентно 20000 особей червей/м³ почвы [28].

Механизмы действия дождевых червей

Технология вермифильтрации является инновационной технологией «два в одном» и удачно сочетает в себе два биологических аэробных процесса: вермикомпостирование и традиционный процесс биофильтрации, и поэтому эту технологию можно назвать более точно — вермибиофильтрация. Вермикомпостирование органических примесей, находящихся в сточных водах, осуществляется в результате присутствия в системе популяции компостных червей. Биодegradация и окисление загрязняющих соединений, остающихся после прохождения сточных вод через слой вермифилтра, происходят в результате активности биопленки микробиоценоза, находящегося в составе биофильтра.

Таким образом, эти два биологических аэробных процесса дополняют и усиливают эффективность удаления различных поллютантов из сточных вод.

Субстрат вермифилтра обладает большой удельной поверхностью до 800 м²/г, а пустой объем достигает до 60%. Растворенные органические вещества, коллоиды и взвешенные твердые частицы проникают с жидкостью в верхний слой вермифилтра, поглощаются и перерабатываются с помощью дождевых червей, а также почвенными микроорганизмами, иммобилизованными на частицах субстрата вермифилтра. В данном случае в зоне вермифилтра происходят те же самые природные процессы, которые имеют место в живом почвенном слое, обильно населенном дождевыми червями и аэробными почвенными микроорганизмами.

Дождевые черви, инокулированные в верхний слой вермифилтра, поглощают органические и неорганические поллютанты из окружающей его среды, переваривают в желудочно-кишечном тракте и выделяют экскременты копролиты. При этом отсутствует образование вредных отходов, так как этот вид отходов представляет собой органическое удобрение вермикомпост. Также в этом процессе не образуются неприятные запахи, потому что дождевые черви создают аэробные условия в субстрате обитания с помощью своей роющей деятельности, что подавляет активность анаэробных микроорганизмов, которые способны выделять зловонные газы [25]. Дождевые черви, поглощая с кормом содержащиеся в нем различные группы микроорганизмов, способны проводить в своем желудочно-кишечном тракте, как в биореакторе, селекцию и активизацию культур эффективных аэробных микробов-деструкторов.

Жизнедеятельность дождевых червей способствует удалению из сточных вод илстой и глинистой фракций, выделяя их в составе гранулированных копролитов, что увеличивает «гидравлическую проводимость» всей системы.

Гуминовые вещества и лигнины, содержащиеся в вермикомпосте, продуцируемом дождевыми червями в слое вермифилтра, в результате их подкармливания осадками сточных вод, переваривания и выделения в виде копролитов, адсорбируют и связывают тяжелые металлы, что существенно снижает их токсичность.

Полученная таким способом вермифильтрованная вода становится достаточно чистой, чтобы ее можно было повторно использовать для ирригации в парках и садах.

Критические факторы, влияющие на процесс вермифильтрации

Ряд факторов, являющихся критическими при очистке сточных вод с помощью технологии вермифилтра-

трации, влияют на производительность и эффективность работы системы вермифильтрации, рассматриваются и обсуждаются ниже.

Виды дождевых червей, подходящие для вермифильтрации. К видам, которые используются в установках по вермифильтрации, относятся дождевые черви-эпигеики, такие как *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei* и *Perionyx excavatus*. Эти виды, как правило, используются для вермикомпостирования различных видов органических отходов, включая осадки сточных вод (Титов И.Н., 2012 [3]; Sinha R.K. et al., 2008 [25]). Хотя компостные черви вида *E. fetida* широко используются, но черви вида *P. excavatus* обладают более высокой скоростью размножения, обеспечивая более быструю стабилизацию органических отходов, и производят больше копролита, который применяется также для биофильтрации сточных вод и трансформации органического вещества (Taylor M. et al., 2003) [31].

Численность популяции дождевых червей. Поскольку дождевые черви играют критическую роль в очистке сточных вод в установке по вермифильтрации, то их численность и плотность популяции (биомасса) в слое вермифильтра, а также их активность являются важными факторами. Считается, что численность в 8–10 тысяч взрослых половозрелых особей на 1 м² почвы — субстрата обитания, который служит вермифильтрующей зоной, что составляет около 80–100 кг биомассы червей в 1 м³ почвы, оптимальна для эффективного функционирования системы вермифильтрации [28]. Численность популяции дождевых червей после ввода в эксплуатацию вермифильтрационной установки может колебаться. Значительное снижение численности популяции червей может означать, что условия окружающей среды в системе очистки сточных вод не являются идеальными. Популяция дождевых червей должна состоять из взрослых особей, ювенилов, подростков и коконов, чтобы система оставалась стабильной.

Аэробность системы. Дождевые черви — аэробные организмы, которым требуется кислород в среде их обитания для выживания и процветания. Очень важно, чтобы в зоне вермифильтра не создавались анаэробные участки, так как в них черви будут погибать и аэробные процессы переработки органики прекратятся. Ферментация в аэробных условиях происходит значительно быстрее, чем анаэробное сбраживание, и без образования неприятных запахов. Прекращение аэробных процессов также приводит к снижению эффективности очистки стоков, что может переполнить систему и прекратить ее работу. Это потребует остановки, разборки системы, очистки и повторной сборки установки.

Токсичность солей и рН сточных вод. Бытовые сточные воды содержат в себе различные группы загрязняющих веществ, в том числе моющие средства, пищевые отходы, нефтепродукты. Эти вещества могут повлиять отрицательно на активность и численность популяции дождевых червей из-за их токсичности. Токсичность сточных вод и значение рН среды влияют на процесс вермифильтрации. Дождевые черви могут быть устойчивыми в широком диапазоне значений рН среды от 4,5 до 9,0. Оптимальные значения рН для дождевых червей около 7,0. При значении рН ниже 6,2 и выше 9,7 происходит нарушение выживания молоди дождевых червей (Hughes R.J. et al., 2007) [15]. Некоторые виды червей, например, *E. fetida*, могут также быть устойчивыми к токсичным соединениям. Присутствие высоких концентраций солей подавляет рост дождевых червей, что, в свою очередь, существенно снижает эффективность работы фильтра. Было установлено, что при одинаковых концентрациях хлористый натрий (NaCl) был более токсичным для дождевых червей вида *E. fetida*, чем сульфат натрия (Na₂SO₄). Исследования также показали, что дождевые черви обладают способностью детоксицировать NaCl, хотя репродуктивная способность червей нарушалась, если черви подвергались воздействию умеренных концентраций NaCl в течение продолжительного периода времени. Наиболее чувствительными к NaCl были ювенильные особи дождевых червей. Однако фактический риск от токсичности NaCl в процессе вермифильтрации был низким (Hughes R.J. et al., 2009) [13]. Также известно, что у дождевых червей имеются белки, так называемые металлотионеины, которые связываются с тяжелыми металлами, и они становятся биологически неактивными.

Выбор фильтрующих сред. Садовая почва в определенном количестве должна быть использована в качестве субстрата обитания дождевых червей в установке по вермифильтрации. Кроме того, она является наиболее подходящим субстратом для нитрифицирующих бактериальных сообществ (*Nitrobacteraceae*, *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*), которые окисляют аммиак, образующийся в процессе гниения органических веществ, до нитритов и нитратов (Wang L. et al., 2011) [33]. Различные исследователи использовали разнообразные материалы для биофильтра в составе установки по вермифильтрации для понимания потенциального воздействия их физических характеристик на общую производительность вермифильтра. Использование угольной золы приводило к снижению содержания фосфора (Wang S. et al., 2010) [34]. Использование гравия было эффективно для очист-

ки бытовых сточных вод (Kharwade A.M. & Khedikar I.P., 2011) [16]. Было показано, что использование в биофильтре гравия размером 60 и 10 мм непосредственно влияет на активность микроорганизмов и скорость потока сточных вод через вермифильтр. Кварцевый песок и керамзит как основа биофильтра были использованы для очистки бытовых сточных вод и показали положительное воздействие на производительность вермифильтра (Liu J. et al., 2009 [19]; Xing M. et al., 2010 [35]). Однако керамзит давал лучшие результаты по сравнению с кварцевым песком, что делает его более подходящей средой (Xing M. et al., 2011) [36].

Гидравлическая нагрузка. Гидравлическая нагрузка Q на вермифильтр выражается в m^3 потока сточных вод на m^2 поверхности вермифильтра в час и определяется по уравнению:

$$HLR = V_w / (A \times X \times t) \quad (1)$$

где:

HLR — гидравлическая нагрузка ($m^3/m^2/$ день),

V_w — скорость потока сточных вод (m^3),

A — площадь вермифильтра (m^2),

t — время, необходимое для прохождения сточных вод через вермифильтр, (час).

Гидравлическая нагрузка является важной характеристикой, чтобы поддерживать оптимальные уровни температуры, аэробных условий и влажности в системе вермифильтра. Она должна учитываться на стадии разработки вермифильтрационной установки. Объем нагрузки является нормой внесения сточных вод на вермифильтр. Показано, что увеличение гидравлической нагрузки при вермифильтрации сточных вод приводило к снижению эффективности их очистки и уменьшению численности популяции взрослых особей дождевых червей в слое вермифильтра [35].

Время гидравлического удерживания. Время гидравлического удерживания или время гидравлического пребывания — это время прохождения сточных вод через слой вермифильтра, в котором обитают дождевые черви, то есть это то время, за которое вермифильтр перерабатывает сточные воды. Оно определяется по уравнению:

$$HRT = (\rho \times X \times V_s) / Q_w \quad (2)$$

где:

HRT — время гидравлического удерживания (час),

V_s — объем вермифильтра (m^3),

ρ — порозность слоя вермифильтра,

Q_w — скорость потока сточных вод через слой вермифильтра ($m^3/$ час).

Таким образом, гидравлическое время удерживания прямо пропорционально объему слоя вермифильтра и обратно пропорционально скорости потока сточных вод через слой вермифильтра.

Это очень важный параметр при очистке сточных с помощью вермифильтрации: он характеризуется определенным периодом пребывания растворенных веществ и суспендированных частиц потока стоков в слое вермифильтра, то есть время их контакта с популяцией вермиккультуры и сообществом почвенных микроорганизмов. Время гидравлического удерживания зависит от скорости потока сточных вод через блок вермифильтрации, объема использованной почвы и ее качества, а также численности популяции дождевых червей и их активности. За этот период дождевые черви совместно с сообществом должны осуществить комплекс физических и биохимических процессов для удаления питательных веществ и, в конечном счете, снизить показатели по БПК, ХПК и взвешенным частицам. Чем дольше сточные воды остаются в системе в контакте с дождевыми червями, тем эффективнее будет обработка. Увеличение объема почвенного профиля может также увеличить время гидравлического удерживания. Число живых взрослых особей дождевых червей, функционирующих на единице площади вермифильтра, также может влиять на время гидравлического удерживания. Для сточных вод, имеющих показатели БПК 200–400 мг/л, время гидравлического удерживания составляет всего 30–40 минут (Sinha R.K. et al., 2010). За этот период популяции дождевых червей и микроорганизмов существенно снижают показатели по БПК, ХПК и количество взвешенных частиц в потоке сточных вод. Тем не менее для бытовых сточных вод рекомендуется увеличить время гидравлического удерживания от 1 до 2 часов. Это связано с необходимостью более полного удаления патогенных микроорганизмов, разложения токсичных химических веществ и снижения концентрации тяжелых металлов.

Важные научные исследования по вермифильтрации сточных вод

В.С. Баландин (1994) [1] подал патентную заявку на изобретение «Фильтр для очистки жидкостей», в которой описывается устройство для очистки жидкостей от взвешенных примесей, предназначенное для улавливания взвешенных частиц, прежде всего, органического происхождения и превращения их в вермикомпост. Фильтр со-

стоит из корпуса с вводом смеси, фильтрующего элемента, блока вывода очищенной жидкости и оснащен средствами удаления взвешенных частиц и очистителя фильтра. Для повышения потребительских свойств фильтра его корпус разделен на верхнюю, среднюю и нижнюю камеры.

Жариков Г.А. (1998) [2] предложил использовать для частичной предварительной очистки от органических загрязнений сточных вод Камского целлюлозно-бумажного комбината систему фильтра-накопителя-отстойника, которая была названа автором зоофильтром. В качестве фильтрующего материала использовали кору деревьев. Для улучшения условий фильтрации на дно лотка помещали слой гравия. Слой коры сверху прикрывали металлической решеткой для предотвращения размыва струей воды фильтрующего слоя и его всплывания. После заполнения первой секции фильтра лоток удлиняли таким образом, чтобы вода поступала во вторую секцию и т.д. В заиленную секцию фильтра помещали дождевых червей в количестве 1–2 тысячи особей для очистки коры от органических включений. Этот способ сочетает механическую очистку сточных вод с частичной утилизацией осевших на коре загрязнений при помощи дождевых червей. В дальнейшем заилвшийся фильтрующий элемент зоофильтра поступал на окончательную переработку с помощью вермикомпостирования.

Янг и соотрудники (Yang J. et al., 2009) [38] исследовали производительность установки по вермифильтрации сточных вод в зимний период. Было показано, что температура в области вермифильтра зимой была на 1–5 °С выше, чем в окружающей среде. Тем не менее температура — это один из ключевых факторов для процесса вермифильтрации, так как при понижении температуры снижается активность дождевых червей. Температура фильтрующего слоя положительно коррелировала с плотностью популяции дождевого червя в нем. Способность дождевых червей к поглощению и перевариванию органических отходов сточных вод в зимний период составляла только около 1/3 от таковой в летний период при одинаковой гидравлической нагрузке. Более того, скорость удаления загрязняющих веществ, кроме БПК₅, при вермифильтрации стоков зимой была вдвое ниже таковой в летний период при одинаковой гидравлической нагрузке. Рекомендуется утепление установки по вермифильтрации в зимний период для поддержания оптимальной производительности.

Ли и соотрудники (Li Y.S. et al., 2008) [18] разработали и испытали пилотную установку вермифильтрации для очистки сточных вод, образующихся при гидросмыве свиного навоза на свиноферме. Она представляла собой емкость размером 5,0 × 2,5 м с решетчатым дном, в кото-

рой находился работающий слой вермифильтра высотой до 1 м, поддерживаемый нетканой синтетической тканью. Вермифильтрующий слой состоял из смеси древесной щепы (одна треть от общей массы) и субстрата с дождевыми червями вида *Eisenia andrei* (две трети от общей массы), который был предварительно приготовлен из коры, щепы, торфа, соломы и вермикомпоста. Сточные воды, прошедшие через сито, для отделения твердой фракции свиного навоза накапливались в резервуаре, а затем распылялись на поверхность вермифильтра. Популяция дождевых червей увеличивалась на 30% в течение 4 недель, что свидетельствовало об акклиматизации вермикультуры. Численность популяции компостных червей достигала до 20000 особей/м² вермифильтра. Было показано, что обработка сточных вод с помощью технологии вермифильтрации сокращала выброс аммиака на 50%. Авторы считают, что технология вермифильтрации может быть использована для рециклинга сточных вод на свинофермах. Очищенные сточные воды могут быть повторно использованы, а биомасса компостных червей и вермикомпост могут быть проданы, чтобы компенсировать стоимость процесса очистки сточных вод и уменьшить объемы свиного навоза на ферме. Твердая фракция сточных вод, собранная на сите, может быть компостирована или вермикомпостирована для дальнейшего использования в качестве органических удобрений.

Сото и Тоха (Soto M.A. & Toha J., 1998) [29] изучали вермифильтрацию муниципальных сточных вод на опытной установке. Система состояла из слоя камней на дне установки, слоя древесных опилок выше и слоя гумуса в 20–30 см наверху, который заселялся 5000–10000 половозрелых особей дождевых червей вида *E. andrei* на 1 м² вермифильтра. Было выявлено, что показатели в вермифильтрованной воде снижались по ХПК на 81–86%, по БПК — на 99%, содержание взвешенных частиц уменьшалось на 98%, азота N — на 89%, а фосфора P — на 70%. Титр кишечной палочки *E. coli* был понижен 1000-кратно. Такая система вермифильтрации была способна перерабатывать до 1000 л сточных вод/м² площади вермифильтра в день.

Янг и соотрудники (Yang J. et al., 2009) [37] провели исследование эколого-физиологической адаптации дождевых червей в слое вермифильтра при различных гидравлических нагрузках. Показано, что гидравлическая нагрузка от 2,4 до 6,0 м³ сточных вод на 1 м² в день слабо влияла на плотность и биомассу дождевых червей. Однако при гидравлической нагрузке до 6,7 м³/м² в сутки численность дождевых червей уменьшалась на одну треть и у них нарушались дыхательные функции. Авторы считают, что

для того чтобы поддерживать хорошие условия обитания в зоне вермифильтра для дождевых червей и обеспечивать их функционирование, гидравлическая нагрузка на верми-фильтр не должна превышать $6,7 \text{ м}^3/\text{м}^2/\text{сутки}$.

Nie E. et al., 2014 [24] систематически изучили новую систему башенного биофильтра для очистки сточных вод в сельской местности Китая. Была определена оптимальная плотность дождевых червей в слое вермифильтра $12,5 \text{ г/л}$ почвы и толщина почвенного слоя вермифильтра не более 40 см . Для более эффективного удаления из сточных вод азота и фосфора при одностадийном процессе вермифильтрации добавляли блок анаэробной био-фильтрации для предварительной очистки стоков, а также заменяли гравий на керамзит в биофильтре и вермибио-фильтре. Была построена пилотная двубашенная система вермибиофильтра в г. Исин в провинции Цзянсу, которая показала хорошую производительность при очистке стоков по ХПК, удалению аммонийного азота и фосфора. Сравнительная оценка башенной системы вермибиофильтрации с другими традиционными технологиями очистки сточных вод продемонстрировала, что башенная система вермибиофильтрации представляет собой универсальную систему, которая может эффективно работать по разумной цене в различных природных и социально-экономических условиях сельской местности Китая.

Ванг и сотрудники (Wang S. et al., 2010) [34] исследовали очистку бытовых сточных вод в сельской местности с помощью устройства для вермифильтрации, содержащего биофильтр на основе конверторного шлака и угольной золы. Результаты показали, что при гидравлической нагрузке стоков $4 \text{ м}^3/\text{м}^2/\text{день}$ в среднем показатели ХПК, БПК и содержание аммиачного азота и фосфора снижались на $78,0, 98,4, 90,3, 62,4\%$, соответственно. Вермифильтрация была эффективной для удаления нерастворимых органических веществ и взвешенных веществ, а фильтр с конвертерным шлаком и угольной золой играет важную роль в удалении фосфора.

Ксинг и сотрудники (Xing M. et al., 2010) [35] изучали очистку бытовых сточных вод с помощью системы вермифильтрации, упакованной с кварцевым песком и керамзитом.

Томар и Сутар (Tomar P. & Suthar S., 2011) [32] продемонстрировали потенциал новой системы вермифильтрации с использованием дождевых червей вида *Perionyx sansibaricus* для очистки городских сточных вод, которая позволяла существенно снизить уровни содержания растворенных веществ на $88,6\%$, взвешенных веществ — на $99,8\%$, нитратного азота — на $92,7\%$ и фосфора — на $98,3\%$, а показатель ХПК — на 90% .

Азуар и Ибрахим (Azuar S.A. & Ibrahim M.H., 2012) [7] исследовали, какой фильтрующий материал подходит для вермифильтрации сточных вод завода по производству пальмового масла. В качестве вермикультуры использовали дождевых червей африканского ночного выползка *Eudrillus eugeniae*. Было показано, что строительный песок в качестве фильтрующего материала превосходил пальмовое волокно.

Малек и сотрудники (Malek T.E.U.A. et al., 2012) [20] изучали производительность системы вермифильтрации с использованием дождевых червей вида *Lumbricus rubellus* для очистки сточных вод завода по производству пальмового масла. Из результатов исследований стало ясно, что система вермифильтрации имеет более высокую производительность в получении очищенной воды. Показатели ХПК были снижены на 98% , а содержание взвешенных частиц уменьшалось на 97% . Значение рН сточных вод повышалось с рН $5,5$ до рН $8,0$. Таким образом, авторы считают, что технология вермифильтрации для очистки сточных вод маслосточной является более эффективной, чем биофильтрация.

Маньючи и Фири (Manyuchi M.M. & Phiri A., 2013) [23] осуществили в лабораторных условиях исследование возможности очистки муниципальных сточных вод (Хараре, Зимбабве) с помощью вермифильтрации. Для этого были использованы компостные черви вида *Eisenia fetida*. Было экспериментально показано, что вермифильтрация сточных вод позволяла снизить в них показатели БПК₅ на 98% , ХПК — на 70% , содержание взвешенных частиц — на 95% и устранить мутность на 98% . Значение рН вермифильтрованной воды равнялось $7,0$. Авторы рекомендуют данную технологию для очистки муниципальных сточных вод в развивающихся странах.

Синха и сотрудники (Sinha R.K. et al., 2007) [26] изучали очистку сточных вод пивоваренного завода и молокозавода с помощью вермифильтрации, которые имеют очень высокие показатели по БПК₅ и содержанию взвешенных веществ 6780 мг/л и 682 мг/л для стоков из пивоваренного завода и 139200 и 36000 мг/л для молокозавода, соответственно. Было найдено, что дождевые черви в процессе вермифильтрации снижали показатели по БПК₅ на 99% , а содержание взвешенных веществ — более чем на 98% в обоих случаях. Время гидравлической задержки для сточных вод пивоваренного завода составляло $3-4$ часа и $6-10$ часов — для стоков молокозавода.

Этими же авторами (Sinha R.K. et al., 2013) [27] были проведены инновационные исследования по очистке промышленных сточных вод предприятия по производству фруктовых соков. Пилотная верми-

фильтрующая установка содержала около 30–40 кг гравия и сверху 10-сантиметровый слой садовой земли объемом 0,032 м³ с заселенными дождевыми червями в количестве 500 взрослых и здоровых особей, который образовывал вермифильтрующий слой. Самый нижний слой толщиной 25 см состоял из гравия размером 7,5 см, над ним 25-сантиметровый слой гравия размером 3,5–4,5 см, затем 20 см гравия размером 10–12 мм в смеси с песком. Вермифльтрация снижала показатели по БПК₅ более чем на 99%, ХПК — на 95%, уменьшала общее содержание растворенных веществ на 97%, общее содержание взвешенных твердых частиц — на 91% и мутность — на 95%. Получаемая вермифильтрованная вода была чистой и прозрачной, а также питательной и могла использоваться повторно для ирригации.

Титов И.Н. и Ириков О.В. (2013) [4] запатентовали в России способ очистки сточных вод с помощью технологии вермифльтрации, который отличается тем, что в системе вермифилтра, содержащей три слоя из камней размером до 7,5 см (высота слоя до 25 см), гравия размером до 4,5 см (высота слоя до 25 см) и мелкого гравия (10–12 мм) с кварцевым песком, заменяется на один слой из колец Рашига высотой 90 см. Пилотная установка усовершенствованной системы вермифльтрации для очистки сточных вод представляет собой коммерческую пластиковую емкость в 1 м³ в металлической оплетке, заполненную кольцами Рашига высотой до 90 см, над которыми наслаивают слой садовой земли в 10 см, после чего его заселяют популяцией компостных червей вида *Eisenia fetida* из расчета 100 кг биомассы червей на 1 м³.

Титов И.Н. и сотрудники (2013) [5] запатентовали в Республике Казахстан способ очистки сточных вод с помощью технологии вермифльтрации. Пилотная установка усовершенствованной системы вермифльтрации для очистки сточных вод представляет собой коммерческую пластиковую емкость в 1 м³ в металлической оплетке, заполненную снизу слоем камней размером до 7,5 см, высотой до 25 см, слоем гравия размером до 3,5 см, высотой до 25 см, над которыми наслаивается слой специально обработанного адсорбента (измельченного цеолита) в 10 см; затем наслаивают слой садовой земли в 10 см, заселяемый популяцией компостных червей вида *Eisenia fetida* из расчета 100 кг биомассы червей на 1 м³.

Крупномасштабное использование технологии вермифльтрации

Многие развивающиеся страны не могут позволить себе создать и обслуживать дорогостоящие станции по

очистке сточных вод. Даже в городах развитых стран, особенно в пригородах, технология вермифльтрации даст возможность перерабатывать собственные бытовые сточные воды на месте их образования, то есть децентрализованно, что может существенно снизить нагрузку на муниципальные станции по очистке сточных вод.

В связи с этим коммерциализация этой инновационной технологии и ввод в действие систем вермифльтрации для очистки бытовых, животноводческих и промышленных сточных вод приобретает актуальный характер. Вышеприведенные экспериментальные научные исследования были проведены во многих странах мира, чтобы научно доказать роль дождевых червей в очистке сточных вод: муниципальных и некоторых видов промышленных сточных вод (особенно пищевой промышленности). Следует ожидать, что коммерциализация этой новой технологии будет с каждым годом расширяться, потому что она имеет ряд некоторых экономических и экологических преимуществ перед традиционными способами очистки сточных вод.

Гхатнекар и сотрудники (Ghatnekar S.D. et al., 2010) [11] применили в Индии трехступенчатую технологию вермикомпостирования в сочетании с системой капельного биофилтра, в котором присутствовала популяция дождевых червей вида *Lumbricus rubellus*, для очистки сточных вод, образующихся при производстве желатина. Каждая из трех установок по вермифльтрации представляла собой емкость размерами 9 м × 7 м × 1 м, заглубленную в землю. На дне укладывались последовательно слои крупного и мелкого щебня, затем — слой из дробленого кирпича, над ним — два слоя гравия и мелкого песка. Верхний слой содержал поддерживающий субстрат из смеси опилок, листьев и коровьего навоза, инокулированный ферментами (протеазы и целлюлазы), микроорганизмами и дождевыми червями вида *Lumbricus rubellus*. Время задержки стоков в вермифилтре составляло всего 4–5 минут. Очищенная вода, прошедшая через все слои вермифилтра накапливается в боковом канале через отверстия в нижней части и удаляется с помощью погружного насоса. Показано, что в воде после вермифльтрации показатели БПК и ХПК были снижены на 89,2 и 90,1%, соответственно. Эта очищенная вода использовалась для выращивания синезеленой водоросли спирулины, ирригации и повторного использования на предприятии в туалетах. Вермикомпост отбирался раз в три месяца из слоя вермифилтра (1/4 объема слоя вермифилтра) и применялся в качестве органического удобрения для продажи.

Бхавалкар (Bhawalkar U.S., 1996) [8] считает, что в зависимости от степени загрязнения сточных вод

и необходимого качества очищенной воды можно использовать одноступенчатую или многоступенчатую системы вермифилтра. В принципе одна установка по вермифилтрации может произвести воду любой степени очистки с помощью увеличения циклов обработки.

Маньючи и соотрудники (Manuuchi M.M. et al., 2013) [21] создали пилотную установку по вермифилтрации производительностью 1000 м³/день и испытали ее для очистки муниципальных сточных вод г. Хараре (Зимбабве). Установка содержала в себе нижний 120 см слой гравия размером 7,0–8,0 см, над ним был следующий 100 см слой гравия размером 3,0–5,0 см, верхний 100 см слой состоял из мелкого гравия (8–12 мм) с песком. Вермифилтр представлял собой 100 см слой садовой земли, в который заселяли дождевых червей вида *Eisenia fetida* при плотности 8000 особей/м³. Площадь вермифилтра равнялась 3,6 м². Было показано, что при гидравлической нагрузке 0,93 м³/м²/день происходила удовлетворительная очистка сточных вод более, чем на 90% по БПК, ХПК и содержанию взвешенных частиц. Таким образом, подобные установки вермифилтрации способны производить крупномасштабную очистку муниципальных сточных вод для потенциального их использования при ирригации.

Патрисио Сото (Soto P., 2009) [30] запатентовал во Франции способ обработки загрязненных органическими веществами бытовых и агропромышленных сточных вод с помощью технологии вермифилтрации, которая во Франции именуется как технология ломбрифилтрации.

Новый способ очистки сточных вод был исследован и разработан во Франции в лаборатории почвенной зооэкологии Национального института агрономических исследований (INRA, Монпелье) в партнерстве с университетом Монпелье как проект «Recyclaqua» («Рециклирование воды»), в котором целью было продемонстрировать этот метод очистки сточных вод в промышленных масштабах для сообщества в 2000 жителей.

Вермифилтр состоит из 10 см слоя активного органического слоя субстрата (смесь древесной щепы, сосновых опилок и коры) с обитающими в нем компостными червями, размещенного над субстратом в 1 м, который сам находится над слоем гравия. Сточные воды пропускаются через сито для удаления твердой фракции и распыскиваются на поверхность вермифилтра, через который он фильтруется. Сточные воды очищаются в активном слое, состоящем из исходной смеси на 1/3 сосновой коры (размером от 25

до 40 мм) и 2/3 необработанных сосновых опилок, высотой в 100 см. Опилки содержат примерно 10% сосновых стружек (максимальная толщина 0,5 мм). Дождевых червей вида *Eisenia andrei* (Bouche, 1972) заселяют в верхний слой вместе с 10-сантиметровым слоем вермикомпоста.

Сточные воды после прохождения через сито регулярно разбрызгивают над круговым вермифилтром, который в случае Combaillaux (Франция) имеет диаметр в 12 м, с помощью вращающегося дождевателя, оснащенного соплами. Разбрызгивание сточных вод мелкими каплями гарантирует, что жидкость равномерно распределится по всей поверхности вермифилтра до просачивания в активный слой. Наконец, вермифилтрованные сточные воды дренируются в 10 см слой гравия, размещенного на дощатом настиле.

Предлагаемая обработка отличается от других экстенсивных систем и заключается в следующем:

- а) отсутствие стадии обезжиривания, так как жиры перерабатываются в слое вермифилтра;
- б) анаэробный реактор не используется до филтрации и поэтому нет анаэробного ила;
- в) отстойник или осветлитель не требуются после вермифилтрации, поскольку все органические загрязнения удаляются в процессе вермифилтрации. Вермифилтр работает как твердофазный ферментер, устраняя проблемы с илом.

С экологической точки зрения основное преимущество этого способа заключается в образовании минимального количества осадков, которые почти полностью состоят из твердой фракции, удаленной во время предварительной обработки на сите (<2 мм) и трансформируемой на месте в вермикомпост.

На основе патента Сото (Soto P., 2009) [30] и вышеописанных исследований французская компания LombriTek ecoinnovation (Экоинновационная вермитехнология) разработала три типа вермистанций для очистки бытовых сточных вод (www.lombritek.com):

- система LombriAER® для переработки бытовых стоков от 200 до 500 жителей без вермифилтра;
- система LombriAPL® для переработки бытовых стоков от 500 до 1000 жителей с использованием вермифилтра;
- система LombriSTEP® для переработки бытовых стоков от 1000 до 4000 жителей, которая представляет собой комплексную ломбристанцию с использованием двух биологических процессов: вермифилтрации жидких стоков и вермикомпостирования твердой фракции органики.

Вермифильтрующая установка размещается в небольшом компактном здании и может функционировать в любых климатических условиях. Установка для очистки стоков от поселка, имеющего численность 2000 жителей, с помощью вермифильтрации представляет собой емкость диаметром 12 м, высотой 2 м. Рабочий слой вермифилтра состоит из двух составляющих: 90 см слоя стружки и коры (основа биофилтра) и 10 см слоя почвы с вермикультурой, над которым разбрызгиваются сточные воды, прошедшие предварительную обработку на сетчатом сите. В качестве вермикультуры используется смесь двух видов компостных червей: *Eisenia fetida* и *Eisenia andrei*. Такая люмбристанция имеет ряд преимуществ:

- низкие затраты на техническое обслуживание;
- аэробный процесс без образования осадков и без запаха;
- компактность системы;
- чистая вода пригодна для ирригации;
- твердые отходы рециклируются в органические удобрения;
- подходит для любого климата, вермифилтр и компостирование производится в помещении под крышей.

Но данная система не предназначена для переработки некоторых видов промышленных отходов, она должна функционировать постоянно без сезонных перебоев и необходимо обучение операторов.

Недавно Duclos L. et al., 2013 [10] получили европейский патент EP 2617685 A1 на способ лямбрифильтрации и на устройство для дезинфекции сточных вод. Устройство состоит из вермифилтра, блока для предварительной обработки сточных вод и блока окончательной очистки воды. Вермифилтр содержит в себе несколько фильтрующих слоев, в одном из них содержится лигноцеллюлозолитик, а также вермифильтрующий слой и слой биофильтрации и вентиляции. Такая система вермифильтрации рекомендуется для очистки бытовых сточных вод, как отдельных жилых домов, так и от небольших поселений.

Компания TRANSCHEM Agritech Ltd. (Индия) установила в 2011 году крупно-масштабную установку по вермифильтрации в полумиллионном городе Бхавнагар (штат Гуджарат) для обработки 250000 л сточных вод ежедневно. Она занимает площадь земли в 400 м². Слой вермифилтра в составе биофилтра содержит слои гальки различного размера, покрытые слоями почвы, древесных опилок, вермикомпостом, в котором обитает популяция дождевых червей. Сточные воды собираются предварительно в накопительный резервуар

и разбрызгиваются над слоем вермифилтра. В данном случае аэрирование или предварительная обработка сточных вод не требуются. Очищенная вода собирается в другой резервуар и используется фермерами. В среднем показатели по БПК уменьшаются более чем на 95%, ХПК — более чем на 85%, содержание взвешенных веществ снижается более чем на 95 %, а мутность и фекальные коли-формы удаляются более чем на 99% [28]. Содержание растворенного кислорода в воде после вермифильтрации достигало значений 4–5 ppm.

Преимущества технологии вермифильтрации

Биотехнология вермифильтрации является относительно новой инновационной, недорогой, устойчивой технологией очистки муниципальных и некоторых промышленных сточных вод. Сотни установок по вермифильтрации различного масштаба в настоящее время успешно работают в Чили, Мексике, Венесуэле, Австралии, Индии и некоторых других странах (Sinha R.K. et al., 2013) [27].

В таблице 1 (Soto, 2010) представлены сравнительные характеристики трех аэробных технологий очистки сточных вод. Из данных этой таблицы ясно видно, что технология вермифильтрации превосходит по всем показателям хорошо известные традиционные аэробные технологии очистки сточных вод.

Система вермифильтрации имеет явные преимущества перед всеми традиционными системами очистки сточных вод (аэрируемые лагуны, аэробные процессы с использованием активного ила в аэротенках, капельные и дисковые биофильтры), которые являются высокоэнергетически затратными и дорогостоящими.

Преимуществами технологии вермифильтрации являются:

- низкая стоимость операций и обслуживания;
- требуется мало энергии;
- не образуются осадки сточных вод;
- не используются химикаты;
- образуются хозяйственно ценные побочные продукты утилизации сточных вод (высокогумусированное органическое удобрение вермикомпост и биомасса компостных червей);
- очищенная вода обогащена питательными веществами (азотом, фосфором и калием) и микроэлементами и может использоваться для ирригации фермерских земель;
- процесс очень гигиеничен при полном отсутствии каких-либо запахов и без эмиссии парниковых газов.

Таблица 1

Сравнение некоторых систем очистки сточных вод

Параметры	Аэрируемые лагуны	Аэротенки с использованием активного ила	Вермифильтрация
Требуемая площадь земли	5 м ² /чел.	0,7 м ² /чел.	0,5 м ² /чел.
Время задержки	20 дней	6–8 час	30–45 мин
Необходимость в оборудовании	Простое (насосы, аэраторы и т.д.)	Сложное (насосы, аэротенки, переработка ОСВ и активного ила)	Очень простое (насосы и распылители)
Инвестиции (без земли)	60–100 \$/чел.	150–300 \$/чел.	35–60 \$/чел.
Стоимость обслуживания	0,06 US \$/м ³ обработанных сточных вод	0,12 US \$/м ³ обработанных сточных вод	0,05 US \$/м ³ обработанных сточных вод
Затраты энергетические и эмиссия парниковых газов	Высокие	Очень высокие	Очень низкие
Рециклинг отходов и получение полезных продуктов	Нет	Нет	1) Чистая вода. 2) Органическое удобрение. 3) Биомасса дождевых червей
Эффективность снижения показателя по БПК	80%	>90%	>95%

Очень важно еще и то, что система вермифильтрации может работать децентрализованно, то есть на месте образования сточных вод (частные дома, коттеджи, поселки, отели, перерабатывающие предприятия и т.д.). Такие установки по вермифильтрации необходимо устанавливать непосредственно на станциях очистки сточных вод или на предприятиях на месте образования сточных вод.

Заключение

Технология вермифильтрации способна предложить реально экономически эффективный и удобный способ очистки различных вводов сточных вод — от бытовых до промышленных. Вермифильтрация может обеспечить замкнутую систему очистки сточных вод, так как вермифильтрат, то есть очищенная вода, может быть повторно использована для ирригации, а другое — вторичное использование полученного вермикомпоста в качестве побочного агрономически ценного продукта и, следовательно, может быть звеном в органической цепи рынка удобрений. Часть затрат может быть компенсирована за счет повторного использования вермифильтрованной воды и вермикомпоста. Технология вермифильтрации имеет потенциал для решения очистки сточных вод и водного кризиса одновременно и имеет значительные преимущества по сравнению с традиционными процессами очистки сточных вод.

Вермикультура в составе вермифилтра при совместном взаимодействии с почвенными микроорганизмами, иммобилизованными на биофилтре, способна в результате механизмов поглощения и биодegradации удалять из сточных вод органические и неорганические загрязнители по таким важнейшим показателям качества воды, как БПК₅, более чем на 90%, ХПК — на 80–90%, растворенные вещества — на 90–92% и взвешенные вещества — на 90–95%.

Несмотря на то, что система вермифильтрации является низкостойким и экологически выгодным способом очистки сточных вод, при тщательном рассмотрении каждого аспекта этой системы становится очевидно, что этот способ является не таким простым, как считают многие исследователи. Включение вермикультуры в состав биофилтра приводит к усложнению обеспечения и поддержания оптимальных условий функционирования системы для самой высокой производительности и эффективности. Такие факторы, как температура, уровни влажности и содержание кислорода, гидравлическая нагрузка и время гидравлического задержания, чрезвычайно важны для выживания популяции дождевых червей в системе, чтобы гарантировать достаточно высокое качество очищенных сточных вод.

Технология вермифильтрации может быть очень рентабельным, эффективным, экономным и удобным процессом без образования осадков сточных вод и выделения неприятно пахнущих газов. Любые нетоксичные

сточные воды от домашних хозяйств, коммерческих организаций или промышленных предприятий могут успешно перерабатываться с помощью дождевых червей, а сама технология может также быть модифицирована для переработки специфических видов сточных вод. Она может использоваться децентрализованно отдельными производствами для того, чтобы снизить нагрузку на очистные сооружения.

Авторы надеются, что и в России данная инновационная технология найдет свое применение. Скорее всего, это может произойти в ближайшее время, особенно в южных регионах России.

Литература

1. Баландин В.С. Фильтр для очистки жидкостей. Заявка на изобретение № 94026790 от 05.07.1994.
2. Жариков Г.А. Научно-методические основы биотехнологической переработки промышленных органических отходов и санации загрязненных почв. Дис. ... доктора биол. наук. – М., 1998.
3. Титов И.Н. Вермикультура: инновационные экотехнологии рециклинга бытовых, сельскохозяйственных и промышленных органосодержащих отходов // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2012. – Т. 8. – № 2. – С. 59–73.
4. Титов И.Н., Ириков О.В. Способ очистки сточных вод. Патентная заявка РФ № 2013116627 от 11.04.2013 г.
5. Титов И.Н., Кан В.М., Титов Н.Н. Способ очистки сточных вод. Патентная заявка Республики Казахстан № 2013/0304.1 от 11.03.2013.
6. Aguilera M.L. Purification of wastewater by vermifiltration. Doctoral Thesis. – University of Montpellier, 2003, 2, France. – 188 p.
7. Azuar S.A., Ibrahim M.H. Comparison of sand and oil palm fibre vermibeds in filtration of palm oil mill effluent (POME) / UMT 11th International Annual Symposium on Sustainability Science and Management, 09th–11th July 2012. – Terengganu, Malaysia. 2012. – P. 1414–1419.
8. Bhawalkar U.S. Vermiculture bioconversion of organic residues. Ph.D. Dissertation, Department of Chemical Engineering, – ИТТ Bombay, 1996.
9. Bouche M.B., Soto P. An industrial use of soil animals for environment: the treatment of organically polluted water by lumbrifiltration / In: Proceedings of the XIVth International Colloquium on Soil Zoology and Ecology, University of Rouen, Mont Saint Aignan, France, August 30 – September 3, 2004. – P. 1–13.
10. Duclos L., Fillit F., Soto P., Bruneau D. Lombrifiltration method and device for sanitising wastewater / Патент EP 2617685 A1 от 19.01.2012.
11. Ghatnekar S.D., Kaviani M.F., Sharma S.M., Ghatnekar S.S., Ghatnekar G.S., & Ghatnekar A.V. Application of vermifilter-based effluent treatment plant (Pilot scale) for biomanagement of liquid effluents from the gelatine industry // Dynamic Soil, Dynamic Plant. – 2010. – Vol. 4. – Special Issue 1. – P. 83–88.
12. Hartenstein R., Kaplan D.L., Neuhauser E.F. Earthworms and trickling filter // J. Water Pollution Control Federation. – 1984. – Vol. 56(3). – P. 294–298.
13. Hughes R.J., Nair J., & Ho G. The risk of sodium toxicity from bed accumulation to key species in the vermifiltration wastewater treatment process // Bio.Tech. – 2009. – Vol. 100. – No. 16. – P. 3815–3819.
14. Hughes R.J., Nair J., Ho G. The toxicity of ammonia/ammonium to the vermifiltration wastewater treatment process // Water Sci. Technol. – 2008. – Vol. 58(6). – P. 1215–1220.
15. Hughes R.J., Nair J., Mathew K., Ho G. Toxicity of domestic wastewater pH to key species within an innovative decentralised vermifiltration system // Water Sci. Technol. – 2007. – Vol. 55(7). – P. 211–218.
16. Kharwade A.M., & Khedikar I.P. Laboratory scale studies on domestic grey water through vermifilter and non-vermifilter // JERS. – 2011. – Vol. 2. – No. 4. – P. 35–39.
17. Li Y.Q. Method for preparing filtration material for earthworm biofilter. Patent CN 1843978. 2006.04.20.
18. Li Y.S., Robin P., Cluzeau D., Bouche M., Qiu J.P., Laplanche A., Hassouna M., Morand P., Dappelo C., Callarec J. Vermifiltration as a stage in reuse of swine wastewater: Monitoring methodology on an experimental farm // Ecological Engineering, – 2008. – Vol. 32. – P. 301–309.
19. Liu J., Lu Zh., Yang J., Xing M., Yu F. Ceramsite-Vermifilter for domestic wastewater treatment and reuse: An option for rural agriculture / In: Energy and Environment Technology, 2009. ICEET-2009, 16–18 Oct. 2009, Guilin. – Guangxi. – Vol. 2. – P. 472–475.
20. Malek T.E.U.A., Ismail S.A. and Ibrahim M.H. Vermifiltration of palm oil mill effluent (POME) / In: UMT 11th International Annual Symposium on Sustainability Science and Management, 09th – 11th July 2012, Terengganu, Malaysia. – P. 1292–1297.
21. Manyuchi M.M., Kadzungura L., and Boka S. Vermifiltration of sewage wastewater for potential use in irrigation purposes using *Eisenia fetida* earthworms // Asian J. Engineering and Technology. – 2013. – Vol. 1. – No. 4. – P. 10–16.
22. Manyuchi M.M., Kadzungura L., Boka S. Pilot scale studies for vermifiltration of 1000 m³/day of sewage wastewater // Asian J. Engineering and Technology. – 2013. – Vol. 1. – No. 4. – P. 108–113.
23. Manyuchi M.M., Phiri A. Application of the vermifiltration technology in sewage wastewater treatment // Asian J. of

- Engineering and Technology. — 2013. — Vol. 1. — No. 4. — P. 108–113.
24. Nie E., Wang D., Yang M., Fang C., Yang X., Su D., Zhou I., Zheng Z. Tower bio-filter system for rural wastewater treatment: bench-scale, pilot-scale, and engineering applications // *Int. J. Environ. Sci. Technol.* — 2014. In press. http://www.ijest.org/?_action=articleInfo&article=1047.
 25. Sinha R.K., Bharambe E.G., Chaudhari E.U. Sewage treatment by vermifiltration with synchronous treatment of sludge by earthworms: a low-cost sustainable technology over conventional systems with potential for decentralization. — Springer Science+Business Media, LLC. 2008.
 26. Sinha R.K., Bharambe G., Bapat P. Removal of high BOD and COD loadings of primary liquid waste products from dairy industry by vermifiltration technology using earthworms // *Ind. J. Environmental Protection.* — 2007. — Vol. 27(6). — P. 486–501.
 27. Sinha R.K., Soni B.R., Chandran V., Patel U. Earthworms — Nature's biofilter of wastewaters on earth : An innovative study on vermifiltration of fruit juice industries wastewater // *International J. of Environmental Sci. and Engineering Res.* — 2013. — Vol. 4(1). — P. 20–30.
 28. Sinha R.K., Valani D. Vermiculture revolution. The Technological Revival of Charles Darwin's Unheralded Soldiers of Mankind. — Nova Sci. Pub. Inc., 2011. — 328 p.
 29. Soto M.A., Toha J. Ecological wastewater treatment: Advanced wastewater treatment, recycling and reuse. AWT 98, Milano, 14–16 September, 1998.
 30. Soto P. Treating organically polluted water e.g. domestic wastewater, by separating solid elements / France Patent 2921651-A1 or 2009-04-03.
 31. Taylor M., Clarke W.P. & Greenfield P.F. The treatment of domestic wastewater using small-scale vermicompost filter beds // *Ecological Engineering.* — 2003. — Vol. 21. — P. 197–203.
 32. Tomar P., & Suthar S. Urban wastewater treatment using vermi-biofiltration system // *Desalination.* — 2011. — Vol. 28. — No. 2. — P. 95–103.
 33. Wang L., Zheng Z., Luo X., & Zhang J. Performance and mechanisms of a microbial-earthworm filter for removing organic matter and nitrogen from synthetic domestic wastewater // *Journal of Hazardous Materials.* — 2011. — Vol. 195. — P. 245–253.
 34. Wang S., Yang J., Lou S., & Yang J. Wastewater treatment performance of a vermifilter enhancement by a converter slacoal cinder filter // *Ecological Engineering.* — 2010. — Vol. 36. — P. 489–494.
 35. Xing M., Li X., & Yang J. Treatment performance of small-scale vermifilter for domestic wastewater and its relationship to earthworm growth, reproduction and enzymatic activity // *African Journal of Biotechnology.* — 2010. — Vol. 9(44). — P. 7513–7520.
 36. Xing M., Yang J., Wang Y., Liu J., & Yu F. A comparative study of synchronous treatment of sewage and sludge by two vermifiltrations using an epigeic earthworm *Eisenia fetida* // *Journal of Hazardous Materials.* — 2011. — Vol. 185. — P. 881–888.
 37. Yang J., Zhao L., Chen Q., Yi D. Ecological and physiological adaptabilities of earthworm in vermifilter under different hydraulic loading // *J. of Tongji Univ. (Nat. Sci.)*. — 2009. — Vol. 8. — P. ..—...
 38. Yang J., Zhang S., Yang J., Lu Z. Analysis on the performance of vermifilter at low temperature in winter // In: ICEET-2009. International Conference on 16–18 Oct. 2009 / Energy and Environment Technology. — 2009. — Vol. 3. — P. 193–197.

VERMIFILTRATION TECHNOLOGY – AN EFFECTIVE METHOD OF TREATMENT OF DOMESTIC AND INDUSTRIAL WASTEWATER. OVERVIEW

I.N. TITOV¹, FARZAGH FAWAZ SALIM FATAH¹, N.P. LARIONOV¹, V.M. KAN²

¹ *Vladimir State University, Vladimir, Russia;*

² *U.U. Uspanov Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry, Ministry of Agriculture RK, Almaty, Kazakhstan*

An overview of recent data on the use of technology vermifiltration for household and industrial wastewater. Vermiculture composed vermifilter in joint collaboration with soil microorganisms immobilized on the biofilter is capable of as a result of the mechanism of absorption and biodegradation of wastewater to remove organic and inorganic pollutants in such important indicators of water quality, as biochemical oxygen demand (BOD₅), more than 90%, Chemical Oxygen Demand (COD), — 80–90%, solutes — by 90–92%, and suspended substances — by 90–95%. The method has spread in countries with warm climates, but there are prospects for its implementation and in Russia.

Keywords: biotechnology, biodegradation, vermifiltration, domestic and industrial wastewater.

ЮБИЛЕЙНЫЕ И ЗНАМЕНАТЕЛЬНЫЕ ДАТЫ 2014 ГОДА*

СОБЫТИЯ, ФАКТЫ

1839 — теория катализа Ю. Либиха («гипотеза молекулярных ударов»).

1859 — публикация книги Дарвина «Происхождение видов путем естественного отбора»

1859 — разработка метода спектрального анализа (Бунзен Р.В. и Кирхгоф Г.Р.).

1864 — выдвижение Л. Пастером теории гниения организмов за счет «корпускул» или «микробов» в воздухе.

1869 — открытие периодического закона Д.И. Менделеева.

1874 — основание стереохимии (Вант-Гофф Я.Х.).

1884 — создание Пастером вакцины от бешенства.

1884 — гипотеза о роли ядра как носителя наследственности (Гертвиг О., Страсбургер Э.).

1889 — Гуго де Фриз постулировал, что «наследование специфических черт организма осуществляется через частицы», назвав последние «(пан)генами».

1889 — Рихардом Альтманом (1852–1901) предложен термин «нуклеиновые кислоты»; он же разработал первый удобный и общий способ выделения нуклеиновых кислот, свободных от белковых примесей.

1894 — выход в свет книги У. Бэтсона «Материалы по изучению прерывистой изменчивости в происхождении видов» (W. Watson. Materials for the study of variation treated with especial regard for the discontinuity in the origin of the species. Cambridge: University Press, 1894, 609 p.), в которой он изложил свою теорию прерывистой изменчивости.

1899 — открытие бактериофагов (Гамалея Н.Ф.).

1904 — У. Бэтсон ввел понятие «сцепление генов».

1909 — введение термина «ген» (Йогансен В., 1857–1927). Ученый представил его в своей книге «Элементы точного учения о наследственности» (Wilhelm Johannsen. Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Gustav Fischer, Jena, 1909). Им же ранее были предложены термины «генотип» и «фенотип».

1909 — Левин Фибус (Levene Ph. A. Th., 1869–1940; ученик И.П. Павлова, впоследствии жил и работал в США, в Рокфеллеровском институте Нью-Йорка) показал, что в состав нуклеиновых кислот входят гуанин, аденин, урацил, цитозин.

1919 — публикация венгерским инженером Карлом Эреки (1878–1952) книги на немецком языке в Берлине: Karl Ereky. Biotechnologie der Fleisch-, Fett- und Milcherzeugung im landwirtschaftlichen Grossbetriebe. Verlag Paul Parey, Berlin, 1919. VII, 84 S. («Биотехнология производства мяса, жира и молока на крупной сельскохозяйственной ферме»).

1929 — обнаружение дезоксирибозы (Левин Ф.).

1929 — публикация работы А. Флеминга об открытии пенициллина: Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium with special reference to their use in the isolation of B. influenza // Br. J. Exp. Pathol. — 1929. — Vol. 10. — P. 226–236.

1934 — английский физик Джон Десмонд Бернал и Дороти Кроуфут (Ходжкин) — будущий лауреат Нобелевской премии по химии 1964 года — представили первую рентгенограмму белка (кристаллы фермента пепсина).

1934 — открытие фенилкетонурии норвежским врачом И.А. Фелингом.

1939 — начало экспериментов А.Н. Белозерского, доказавших наличие ДНК и РНК в бактериях.

1944 — публикация результатов экспериментов О. Эйвери с коллегами о наследственном материале, вызывающем трансформацию бактерий, с доказательством того, что ДНК является носителем генетической информации: Avery O.T., MacLeod C.M., and McCarty M. Studies on the chemical nature of the

* Материал подготовлен О.В. Воробьевой

substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus Type III // *Journal of Experimental Medicine*. — 1944. — Vol. 79. — P. 137–158.

1944 — открытие транспозируемых генетических элементов Барбарой Мак-Клинтон (Нобелевская премия 1983 г.).

1944 — выход в свет книги Э. Шредингера «Что такое жизнь с точки зрения физики?» (E. Schroedinger. *What is life?* Cambridge University Press, 1944).

1944 — Сенгер Ф. применил метод хроматографии для определения аминокислотной последовательности белка инсулина.

1949 — А. Сент-Дьердьи показал, что изолированные миофибриллы сокращаются при добавлении АТФ.

1949 — Л. Полинг обнаружил, что серповидноклеточная анемия вызывается наличием в эритроцитах дефектного гемоглобина (начало учения о молекулярных болезнях человека).

1954 — публикация статьи Г. Гамова, в которой впервые выдвигается идея триплетности генетического кода: Gamov G. Possible relation between deoxyribonucleic acid and protein structures // *Nature*. — 1954. — Vol. 173. — P. 318. Он полагал, что для кодирования информации четырьмя азотистыми основаниями для синтеза 20 аминокислот потребуется язык из трех букв (исходной аналогией у него были четыре масти карт): «при сочетании 4 нуклеотидов тройками получаются 64 различные комбинации», чего, по его мнению, вполне достаточно «для записи наследственной информации».

1959 — присуждение Нобелевской премии С. Очоа и А. Корнбергу.

1959 — Ф. Жакоб и Ж. Моно впервые установили факт существования механизма регуляции генов. Ими предложены термины «репрессор» и «оперон».

1959 — введение в лабораторную практику полиакриламидного геля (Рэймонд С.).

1959 — основание Института химии природных соединений АН СССР (ныне — Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН).

1964 — Х. Темин (1934–1994) предложил гипотезу ДНК-провируса, предположив таким образом возможность обратной транскрипции: от РНК к ДНК.

1964 — присуждение Нобелевской премии по физиологии и медицине К. Блоку (1912–2002) и Ф.Ф.К. Линену (1911–1979) за открытия, связанные с механизмом и регуляцией холестерина и жирных кислот.

1969 — вручение Нобелевской премии М. Дельбрюку, А. Херши, С. Луриа.

1969 — химический синтез искусственного гена, кодирующего аланиновую РНК дрожжей (Корана Х.Г.).

1969 — выход на русском языке книги Дж. Уотсона «Двойная спираль».

1969 — присуждение А.А. Баеву с коллегами Государственной премии СССР за определение полной нуклеотидной последовательности валиновой тРНК пекарских дрожжей (1967).

1974 — 30 лет со дня написания и публикации П. Бергом с коллегами открытого письма о потенциальной опасности использования рекомбинантных ДНК.

1974 — разработка Фредериком Сенгером метода секвенирования ДНК.

1974 — публикация статьи С. Коэна и Г. Бойера об экспрессии чужеродного гена, имплантированного в бактерии с помощью методов рекомбинантной ДНК.

1979 — разработан метод клонирования ДНК, позволяющий выделять и клонировать тысячи различных генов (Bender W.W., Hogness D.S.).

1979 — сообщение о клонировании гена гормона роста человека (Baxter John).

1979 — в лаборатории William J. Rutter из Калифорнийского университета в Сан-Франциско

(UCSF) выделен белок оболочки вируса, вызывающего гепатит В.

1979 — синтез генов соматостатина и инсулина с помощью метода рекомбинантной ДНК (компания «Дженентек» и The City of Hope National Medical Center, California, USA).

1984 — разработка метода генетических «отпечатков пальцев» — «DNA fingerprinting technique» (Джеффис А.).

1984 — открытие механизма передачи генов от почвенных бактерий рода *Agrobacterium* в растения (Van Montagu M., Schell J.).

1984 — вручение Нобелевской премии Ж. Келеру и С. Мильштейну за получение моноклональных антител.

1984 — Стенфордский университет получил патент на производство ДНК прокариот.

1984 — корпорация Chiron объявила о первом клонировании и секвенировании целого генома вируса иммунодефицита человека.

1989 — создание в США Национального центра по исследованию генома человека во главе с лауреатом Нобелевской премии Джеймсом Уотсоном.

1989 — разработка учеными Калифорнийского университета Davis рекомбинантной вакцины против смертельного вируса чумы рогатого скота.

1989 — 25 лет со дня вручения Нобелевской премии по физиологии и медицине Дж.М. Бишопу и Х.Э. Вармусу за открытие клеточного происхождения ретровирусных онкогенов.

1994 — в США разрешена продажа в магазинах первого генетически модифицированного пищевого продукта — медленно созревающих томатов сорта «Флавр Савр».

1999 — создание первого растения с измененной пищевой ценностью: риса, содержащего бета-каротин (так называемый «золотой рис»). В 2005 году получена новая разновидность генетически модифициро-

ванного риса «Golden Rice 2», в котором бета-каротин содержится в 23 раза больше по сравнению с первым вариантом.

1999 — расшифрован геном дрозофилы.

2004 — расшифрован геном крысы.

ПЕРСОНАЛИИ

205 лет со дня рождения Чарльза Дарвина (12 февраля 1809–1882).

180 лет со дня рождения Д.И. Менделеева (8 февраля 1834–1907).

165 лет со дня рождения Йохана Густава Кьельдаля (J.G.Ch. Kjeldahl, 1849–1900), датского химика. Автор известного метода определения количества белка и азотсодержащих соединений в тканях и жидкостях организма (метод Кьельдаля, 1883).

165 лет со дня рождения и 95 лет со дня смерти Уильяма Ослера (William Osler, 1849–1919), канадского терапевта. В числе ряда других заболеваний описал синдром наследственных геморрагических телеангиоэктазий (болезнь Ослера — Рандю) (1901).

145 лет со дня рождения Фибуса Аарона Теодора Левина (Phoebus Aaron Theodor Levene, 1869–1940), русско-американского биохимика, ученика И.П. Павлова, автора тетрауклеотидной гипотезы.

120 лет со дня рождения и 30 лет со дня смерти Владимира Александровича Энгельгардта (1894–1984), отечественного биохимика.

120 лет со дня рождения Льва Александровича Зильбера (1894–1966), отечественного вирусолога.

120 лет со дня рождения Александра Ивановича Опарина (1894–1980), отечественного биохимика.

115 лет со дня рождения Фрица Альберта Липмана (Fritz Albert Lipmann, 1899–1986), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине за открытие коэнзима А (1953, вместе с Х. Кребсом, который получил ее за открытие цикла лимонной кислоты).

115 лет со дня рождения Альбера Клода (1899–1983), бельгийского цитолога, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1974, вместе с Дж. Паладе и К. Де Дювом) за исследования структурной и функциональной организации клетки.

115 лет со дня рождения Макфарлейна Франка Бернета (M.F. Burnet, 1899–1985), австралийского иммунолога и вирусолога, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1960, совместно с П. Медаваром) за открытие искусственной иммунной толерантности.

115 лет со дня рождения Александра Николаевича Несмеянова (1899–1980), отечественного химика-органика, президента АН СССР (1951–1961).

110 лет со дня рождения и 20 лет со дня смерти Александра Александровича Баева (1904–1994), российского биохимика.

110 лет со дня рождения Глеба Михайловича Франка (1904–1976), российского биофизика.

110 лет со дня рождения Георгия Антоновича Гамова (1904–1968), американского физика, русского по происхождению, эмигрировавшего в 1930-е годы. Автор крупных открытий и гипотез в теоретической физике (туннельный эффект) и астрофизике (теория эволюции звезд с термоядерным источником энергии, теория Большого Взрыва вселенной). Ему же принадлежит идея триплетности генетического кода (обнаружена в 1954 г.).

105 лет со дня рождения Эдварда Л. Тейтема (Edward Lawrie Tatum, 1909–1975), американского молекулярного биолога, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1958 года, вместе с Джорджем Уэлсом Бидлом — за открытие способности генов регулировать определенные химические процессы, и Джошуа Ледербергом, которому была присуждена премия за открытия, касающиеся генетической рекомбинации у бактерий и структуры их генетического аппарата.

105 лет со дня рождения Риты Леви-Монтальчини (1909–2012), итальянского нейробиолога, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1986, совместно со Стенли Коэном) за открытие факторов роста.

100 лет со дня рождения Ренато Дульбекко (1914–2012), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1975, совместно с Х.М. Теминым и Д. Балтимором) за открытия, касающиеся взаимодействия между вирусами опухолей и генетическим материалом клетки.

85 лет со дня рождения Вернера Арбера (род. в 1929 г.), швейцарского генетика, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1978, вместе с Х.О. Смитом и Д. Натансом) за открытие ферментов рестрикции и приложение этих знаний к проблемам молекулярной генетики.

85 лет со дня рождения Джералда Мориса Эделмана (род. в 1929 г.), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1972, вместе с Р.Р. Портером) за открытия, касающиеся химической структуры антител.

80 лет со дня рождения и 20 лет со дня смерти Хоурда Мартина Темина (1934–1994), американского молекулярного биолога, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1975, совместно с Р. Дульбекко и Д. Балтимором) за открытия, касающиеся взаимодействия между вирусами опухолей и генетическим материалом клетки.

80 лет со дня рождения Юрия Анатольевича Овчинникова (1934, 2 августа – 1988), российского молекулярного биолога, академика АН СССР, вице-президента АН СССР (1974–1988).

80 лет со дня рождения Николая Альфредовича Платэ (1934–2007), отечественного химика, академика РАН, главного ученого секретаря Президиума РАН (1996–2001), вице-президента РАН (2001–2007).

80 лет со дня рождения Бенгта Ингемара Самуэльсона (род. в 1934 г.), шведского биохимика, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1982, вместе с С.К. Бергстромом и Дж.Р. Вейном) за открытия, касающиеся простагландинов и родственных им биологически активных веществ.

75 лет со дня рождения Сусуму Тонегавы (Susumu Tonegawa, род. в 1939 г.), американского иммуногенетика, японца по происхождению, лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1987) за открытие генетического принципа происхождения разнообразия антител.

75 лет со дня рождения Лиланда Х. Хартвелла (Liland H. Hartwell, род. в 1939 г.), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (2001, совместно с Р. Тимоти Хантом и Полом М. Нерсом) за открытие ключевых регуляторов клеточного цикла.

75 лет со дня рождения Харолда Элиота Вармуса (р. в 1939 г.), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (1989, совместно с Дж.М. Бишопом) за открытие клеточного происхождения ретровирусных онкогенов.

70 лет со дня рождения Филлипа Аллена Шарпа (Phillip Allen Sharp, род. в 1944 г.), американского генетика, соавтора открытия расщепления (сплайсинга) генов. Разделил Нобелевскую премию по физиологии и медицине 1993 года с Ричардом Дж. Робертсом «за открытие, независимо друг от друга, прерывистой структуры гена».

70 лет со дня рождения Кэри Б. Муллиса (Kary B. Mullis, род. в 1944 г.), американского биохимика, создателя метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), лауреата Нобелевской премии по химии 1993 года (совместно с канадским биохимиком Майклом Смитом).

70 лет со дня рождения Рахима Мусаевича Хайтова (род. в 1944 г.), известного российского иммунолога.

65 лет со дня рождения Пола М. Нерса (Paul M. Nurse, род. в 1949 г.), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине (2001, совместно с Р. Тимоти Хантом и Лилендом Х. Хартвеллом) за открытие ключевых регуляторов клеточного цикла.

70 лет со дня смерти А. Карреля (1873–1944), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1912 г.

65 лет со дня смерти Феликса Д'Эрелля (F.H. D'Erelle, 1873–1949), канадского бактериолога, открывшего бактериофаги в 1917 г.

35 лет со дня смерти Эрнста Б. Чейна (1906–1979), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1945 г. (совместно с А. Флемингом и Х.У. Флори) за открытие пенициллина.

30 лет со дня смерти Карла Ф. Кори (1896–1984), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1947 года за открытие каталитического превращения гликогена (вместе с его супругой Гертой Т. Кори).

25 лет со дня смерти Джорджа У. Бидла (1903–1989), лауреата Нобелевской премии 1958 года (вместе с Э.Л. Тейтемом и Дж. Ледербергом).

20 лет со дня смерти Дороти Мэри Кроуфут-Ходжкин (1910–1994), английского химика, лауреата Нобелевской премии (1964), иностранного члена АН СССР (1976). Награждена золотой медалью им. М.В. Ломоносова (1982).

15 лет со дня смерти Даниеля Натанса (1928–1999), лауреата Нобелевской премии 1978 года (вместе с В. Арбером и Х.О. Смитом).

10 лет со дня смерти Френсиса Крика (1916–2004), лауреата Нобелевской премии 1962 года (вместе с Дж. Уотсоном и М.Х.Ф. Уилкинсом).

СОБЫТИЯ 2014 ГОДА

К 70-летию со дня рождения академика Рахима Мусаевича Хаитова



Исполнилось 70 лет со дня рождения академика РАН и РАМН Хаитова Рахима Мусаевича, известного иммунолога, директора ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России».

Р.М. Хаитов родился 6 января 1944 г. В 1968 г. защитил кандидатскую диссертацию, в 1972 г. — докторскую в Институте биофизики МЗ СССР. В 1980 г. ему было присвоено звание профессора. В 1991 году он был избран членом-корреспондентом РАМН, в 1997 г. — действительным членом РАМН, в 2006 г. — действительным членом РАН. Он получил звание заслуженного деятеля науки РФ.

Академик Р.М. Хаитов вместе с академиком Р.В. Петровым стояли у истоков формирования отечественной иммунологии. Решающим моментом явилось создание первого в стране Института иммунологии Минздрава СССР, куда он перешел вместе с сотрудниками руководимой им лаборатории Института биофизики МЗ СССР. В 1983 г. он был назначен заместителем директора Института иммунологии по научной работе, а в 1988 г. стал директором этого института, который возглавляет по настоящее время.

Р.М. Хаитов внес значительный вклад в развитие фундаментальных и прикладных аспектов иммунологии, иммуногенетики и биотехнологии. Он — автор более 600 научных работ, в том числе 20 монографий, руководств и учебников по иммунологии. Им подготовлено 38 докторов и 69 кандидатов наук.

Ученый ведет большую научно-организационную работу. Он — председатель Ученого совета Института иммунологии и Диссертационного совета по защите

докторских и кандидатских диссертаций по специальностям «Иммунология» и «Клиническая иммунология и аллергология», член секции Экспертного совета ВАК. С 1988 года по настоящее время — главный редактор журналов «Иммунология» и «Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогеномика». С 1995 года он возглавляет Российскую ассоциацию аллергологов и клинических иммунологов (РААКИ). Он является главным аллергологом-иммунологом Минздрава России, руководителем Секции фундаментальной медицины Отделения физиологии и фундаментальной медицины РАН.

Основные книги Р.М. Хаитова:

- Контроль и регуляция иммунного ответа (1981) — соавт. Р.В. Петров, В.М. Манько, А.А. Михайлова.
- Искусственные антигены и вакцины (1988) — соавт. Р.В. Петров.
- СПИД (1992) — соавт. Г.А. Игнатъева.
- Иммунология. Учебник (2000, 2002, 2010) — соавт. Г.А. Игнатъева, И.Г. Сидорович.
- Физиология иммунной системы (2001, 2005).
- Клиническая аллергология (2002) — ред.
- Иммунология. Учебник (2006, 2013).
- Аллергология и иммунология. Национальное руководство (2009) — соавт. Н.И. Ильина.
- Аллергология. Клинические рекомендации. Изд. 2. (2009) — соавт. Н.И. Ильина.
- Иммунология. Атлас (2011) — соавт. А.А. Ярилин, Б.В. Пинегин.
- Иммуноterapia. Руководство для врачей (2011) — ред. (совместно с Р.И. Атауллахановым).

Р.М. Хаитов имеет правительственные награды — орден Трудового Красного Знамени, орден «Знак Почета», ордена «За заслуги перед Отечеством» III и IV степени. Он удостоен Государственной премии РФ в области науки и техники (технологий) (2001, 2011), премии Правительства РФ в области науки и техники (1996, 2004), Государственной премии Узбекистана (1983), премии имени И.И. Мечникова РАН (1995), премии имени А.А. Богомольца АМН СССР (1979), премии Ленинского комсомола в области науки и техники (1973).

Рахим Мусаевич является членом редакционного совета нашего журнала. Редакционная коллегия и редакционный совет журнала поздравляют юбиляра и желают дальнейших творческих успехов.

ПРЕДСТОЯЩИЕ МЕРОПРИЯТИЯ 2014 ГОДА

КОНФЕРЕНЦИИ, СЪЕЗДЫ

О проведении Международной научной конференции по биоорганической химии, биотехнологии и бионанотехнологии, посвященной 55-летию Института биоорганической химии им. академиков Ю.А. Овчинникова и М.М. Шемякина РАН и 80-летию со дня рождения академика Ю.А. Овчинникова (Москва, 15–19 сентября 2014 г.)

С 15 по 19 сентября 2014 года в Москве, в Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ул. Миклухо-Маклая, 16/10) состоится Международная научная конференция по биоорганической химии, биотехнологии и бионанотехнологии, посвященная 55-летию ИБХ РАН и 80-летию со дня рождения академика Ю.А. Овчинникова.

В работе конференции будут участвовать специалисты в области биоорганической химии, биотехнологии, бионанотехнологии. С докладами выступают приглашенные лекторы из числа выдающихся ученых, в том числе Нобелевские лауреаты С. Альтман (США), Р. Корнберг (США), Р. Хубер (Германия).

Планируется проведение пленарных заседаний и стендовых секций. Рабочие языки конференции — русский и английский.

Желающие представить на конференции свои работы в виде стендовых сообщений могут отправить тезисы и анкету участника конференции не позднее 16 июня 2014 г. по адресу: ibch.conference@gmail.com. По

всем вопросам участия в работе конференции обращаться в Оргкомитет по адресу: marinatretyak@mail.ru (Третьяк Марина Викторовна).

С целью поощрения творческой активности молодых ученых в проведении научных исследований в рамках конференции планируется проведение конкурса молодых ученых на лучшую научно-исследовательскую работу.

К участию в конкурсе приглашаются школьники старших классов, студенты, аспиранты, молодые ученые в возрасте до 35 лет, проводящие научные исследования в области физико-химической биологии, биотехнологии и бионанотехнологии.

В качестве наград для победителей конкурса учреждены дипломы конференции и денежные премии, а также специальные призы для самого юного участника, самого молодого кандидата наук и самого молодого доктора наук.

Желающие представить свои работы на конкурс могут отправить тезисы и анкету участника конкурса не позднее 16 июня 2014 г. по адресу: yak_ti@ibch.ru.

В рамках конференции будет проведен также отборочный тур конкурса по программе «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («У.М.Н.И.К.») Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере.

По всем вопросам участия в конкурсе молодых ученых и отборочном туре конкурса по программе «У.М.Н.И.К.» обращаться в Оргкомитет по адресу: ovch@bk.ru (Овчинникова Татьяна Владимировна).

Организационный взнос за участие в работе конференции или в конкурсе молодых ученых не предусмотрен.

1. Рукописи статей и других материалов представляются в редакцию на бумажном носителе (формат А4) или в электронном виде (на дискете или по электронной почте с обязательным уведомлением).
2. Текст набирается в Microsoft Word, шрифт — Times New Roman, размер шрифта — 12, межстрочный интервал — полуторный. Размещение на листе формата А4 со стандартными полями. Кроме текста статьи, добавляются сведения об авторе (ах): Ф.И.О., место работы, должность, научные степень и звание, адреса для переписки и электронной связи, номера факсов и телефонов). Необходимо сопроводительное письмо из учреждения.
3. Объем рукописи: оригинальные статьи — не более 12–14 стр. (в среднем 22000 знаков), не более 25 цитированных авторов; обзоры — не более 20–24 стр. (в среднем 40000 знаков), список литературы — не более 50 авторов. Требования к композиции рукописи: 1) оригинальные статьи — УДК, название, автор (ы), место работы, резюме на русском и английском языках, ключевые слова, введение, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение (выводы), литература, список сокращений; 2) краткие сообщения и обзоры строятся в виде сплошного текста, без вышеуказанных рубрикации, со списком литературы, резюме на русском и английском языках; 3) остальные материалы (письма в редакцию, хроникальные сообщения, рецензии и т.д.) представляются в произвольной форме.
4. Требования к оформлению содержания рукописи (таблицы, графики, формулы, фотографии, рисунки и др.). Рисунки прилагаются отдельно к тексту рукописи в бумажном и электронном виде в формате TIF или JPEG. Таблицы помещаются по ходу текста или прилагаются отдельно. Порядок оформления иллюстративного и иного дополнительного (пояснений, примечаний, благодарностей и т.д.) материала к текстам обычный.
5. Требования к цитированной литературе: Список литературы оформляется или в алфавитном порядке (вначале — литература на русском языке, затем — на иностранных), или по порядку упоминания и ссылок в тексте при использовании цифр. В последнем случае номер цитированного источника берется в тексте в квадратные скобки. Оформление отдельного источника литературы осуществляется в соответствии с общепринятыми

для научных изданий библиографическими требованиями, включая международные правила.

6. Не допускается публикация работ, уже напечатанных или посланных в редакции других изданий.
7. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.
8. Принятые к публикации рукописи проходят рецензирование, после чего принимается окончательное решение о возможности печатания. Отклоненные рукописи не возвращаются.
9. Редакция не несет ответственности за достоверность фактов, выводы и суждения, приведенные в представленном к печати и опубликованном материале авторов.
10. Редакция оставляет за собой право делать научную и литературную правку, в том числе сокращать объем статей.
11. Адрес редакции указан на титульном листе журнала.
12. Журнал является безгонорарным. Редакция резервирует для автора статьи по 1 экземпляру журнала. По вопросам приобретения отдельных номеров журнала следует обращаться в редакцию.
13. Имеется электронный архив журнала на сайте Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова (www.biorosinfo.ru).



Подписано к печати 29.03.14
Формат 60/90¹/₈. Бумага офсетная № 1.
Печать офсетная. Гарнитура Академия.
Печ. л. 5,0. Тираж 1000 экз.

ООО «Издательство «БИОСФЕРА»
109147 Москва, ул. Марксистская, 20, стр. 8
Тел.: +7 (495) 763-18-41; E-mail: biosphere@biorosinfo.ru

ОБЩЕСТВО БИОТЕХНОЛОГОВ РОССИИ ИМ. Ю.А. ОВЧИННИКОВА

Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова (ОБР) создано в 2003 г., зарегистрировано Минюстом России.

Главными целями деятельности ОБР являются:

- содействие развитию биотехнологии в России как приоритетного направления научно-технического прогресса, основы повышения уровня жизни и благосостояния ее граждан;
- содействие сохранению научного и научно-технологического потенциала биотехнологии в различных отраслях народного хозяйства, достижению приоритета российской науки;
- обеспечение обмена научными идеями и научно-техническими достижениями, передовым производственным опытом;
- содействие развитию сотрудничества ученых, инженеров, специалистов с мировым научным и общественно-политическим сообществом;
- создание условий для творческой работы, роста профессионализма и компетентности, более полного использования интеллектуального потенциала членов организации в интересах развития науки и производства.

Для достижения этих целей ОБР осуществляет различные мероприятия, в том числе проводит конференции, симпозиумы, рабочие совещания. Регулярно проводится Съезд Общества биотехнологов России.

Издается журнал «Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова» совместно с Информационно-аналитическим центром медико-социальных проблем.

ОБР имеет отделения в 57 регионах России и объединяет свыше 3000 членов.

ОБР является членом Европейской федерации биотехнологии.

ОБР тесно сотрудничает с Союзом биотехнологов и другими общественными и государственными организациями, научными и образовательными учреждениями по профилю.

Основной организационной деятельностью ОБР являются региональные отделения, тесно взаимодействующие с Центральным Правлением и Секциями (экспертными группами).

Членство в ОБР является бесплатным для физических лиц.

Контакты: Адрес: 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33

Тел.: +7 (495) 648-09-13

E-mail: obr@biorosinfo.ru; www.biorosinfo.ru