НТУУ "КПІ" scientia vincet
Факультет біотехнології і біотехніки

UNIVERSITY OF HULL

Scripps Research
Science Changing Life

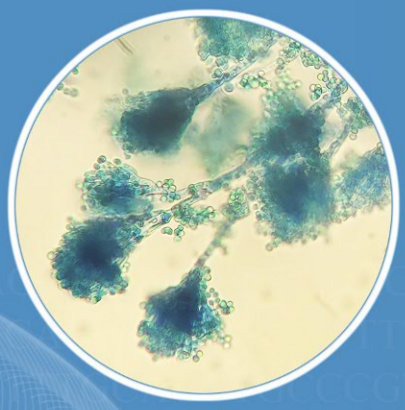
Łukasiewicz
PIAP

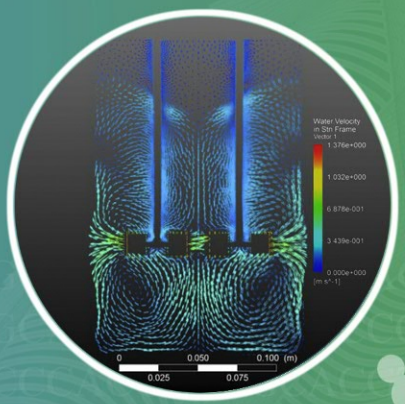
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE
INSTITUTE OF CELL BIOLOGY AND GENETIC ENGINEERING

XVII Міжнародна науково-практична конференція
студентів, аспірантів і молодих вчених

«Біотехнологія XXI століття»

присвячена 125-річчю з дня заснування КПІ ім. Ігоря Сікорського





19.05.2023, Київ, КПІ ім. Ігоря Сікорського

«Біотехнологія XXI століття»: матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції, 19 травня 2023. Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2023, 335с.

Матеріали конференції включають роботи молодих вчених, аспірантів та студентів, які проводять наукові дослідження в галузях промислової, харчової, сільськогосподарської, медичної біотехнології, магнітних технологіях в біотехнології та медицині, біоінформаційних дослідженнях, екологічної біотехнології та біоенергетики, відновлюваних джерел енергії та напрямку інженерного забезпечення біотехнологічних виробництв.

Матеріали конференції опубліковано в авторській редакції.

Відповідальні за випуск:
Костик С.І.
Колтишева Д.С.
Сироїд О.О.
Фарфоламеєва Д.О.

Рекомендовано до опублікування Вченою радою факультету біотехнології і біотехніки, протокол № 10/1 від 17.05.2023.

НТУУ "КПІ" scientia vincet
Факультет біотехнології і біотехніки

UNIVERSITY OF HULL

Scripps Research
Science Changing Life

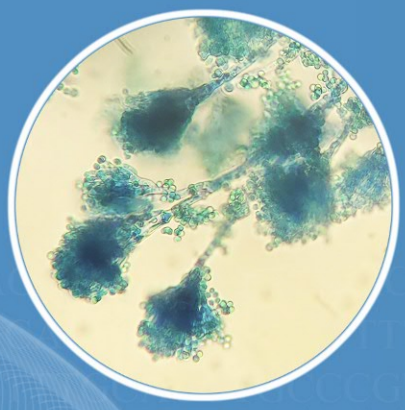
Łukasiewicz
PIAP

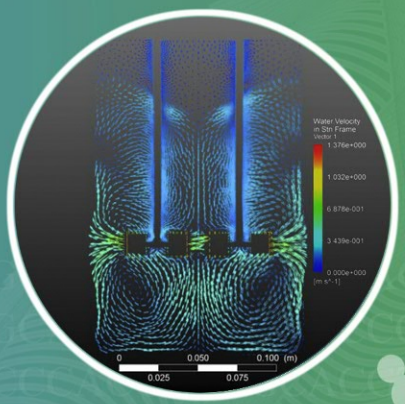
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE
INSTITUTE OF CELL BIOLOGY AND GENETIC ENGINEERING

XVII International Scientific and Practical Conference
for students, postgraduates and young scientists

"Biotechnology of the XXI Century"

Dedicated to the 125th anniversary of the foundation of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute





19.05.2023, Kyiv, Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute

"Biotechnology of the 21st century": materials of the 17th International scientific and practical conference, 19 May 2023. Kyiv: Igor Sikorsky KPI, 2023, 335 p.

The materials of the conference include works of young scientists, graduate students and students who conduct scientific research in the fields of industrial, food, agricultural, medical biotechnology, magnetic technologies in biotechnology and medicine, bioinformatics research, ecological biotechnology and bioenergy, renewable energy sources and the direction of engineering support for biotech industries.

The materials of the conference are published in the author's edition.

Editors:
Sergii Kostyk
Dina Koltysheva
Olena Syroid
Diana Farfolameieva

Recommended for publication by the Academic Council of the Faculty of Biotechnology and Biotechnics, protocol № 10/1, 17 May 2023.

ПРОГРАМНИЙ КОМІТЕТ

Голова програмного комітету:
Тодосійчук Т.С. – д.т.н., професор, декан факультету біотехнології і біотехніки КПІ ім. Ігоря Сікорського.

Співголова програмного комітету:
Кучук М.В. – д.б.н., член-кореспондент НАН України, директор Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України.

Члени програмного комітету:
Xuebin Ke – Ph.D., Senior Lecturer of the Department of Chemical Engineering of University of Hull;
Vadim Klyushnichenko – Ph.D., VP Pharmaceutical Development & Quality of the Scripps Research Institute;
Коробійчук І. В. – доктор габілітований, канд. техн. наук, директор департаменту наукової підтримки промислово-дослідного інституту автоматизації та вимірювань РІАР;
Мельник В.М. – д.т.н., професор, завідувач кафедри біотехніки та інженерії КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Голуб Н.Б. – д.т.н., доцент, завідувач кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Поліщук В.Ю. – к.т.н., доцент, в.о. завідувача кафедри промислової біотехнології та біофармації КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Дуган О.М. – д.б.н., професор, професор кафедри промислової біотехнології та біофармації КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Кузьмінський Є.В. – д.х.н., професор, професор кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Горобець С.В. – д.т.н., професор, професор кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Моргун Б.В. – д.б.н., провідний науковий співробітник, заступник директора Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України;
Шибецький В.Ю. – к.т.н., доцент, заступник декана з міжнародної та наукової діяльності ФБТ КПІ ім. Ігоря Сікорського.

ОРГАНІЗАЦІЙНИЙ КОМІТЕТ

Голова організаційного комітету:
Костик С.І. – к.т.н., доцент, доцент кафедри біотехніки та інженерії КПІ ім. Ігоря Сікорського.

Заступник голови організаційного комітету:
Калініна М.Ф. – к.т.н., старший викладач кафедри біотехніки та інженерії КПІ ім. Ігоря Сікорського.

Члени оргкомітету:
Богдан Т.З. – к.б.н., доцент, доцент кафедри промислової біотехнології та біофармації КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Маринченко Л.В. – к.т.н., доцент кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Сироїд О.О. – асистент кафедри промислової біотехнології та біофармації КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Фарфоламеєва Д.О. – асистент кафедри промислової біотехнології та біофармації КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Колтишева Д.С. – аспірант кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології КПІ ім. Ігоря Сікорського;
Піць В.В. – аспірант кафедри промислової біотехнології та біофармації КПІ ім. Ігоря Сікорського.

PROGRAM COMMITTEE

Chairman:

Tetiana Todosiichuk – DSc, Professor, Dean of the Faculty of Biotechnology and Biotechnics of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute.

Co-Chairman:

Mykola Kuchuk – DSc, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Ukraine, Director of the Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Program committee members:

Xuebin Ke – Ph.D., Senior Lecturer of the Department of Chemical Engineering of University of Hull;
Vadim Klyushnichenko – Ph.D., VP Pharmaceutical Development & Quality of the Scripps Research Institute;
Igor Korobiichuk – doctor of habilitation, Ph.D., Director of the Department of Scientific Support of the PIAP Industrial Research Institute of Automation and Measurements;
Victoria Mel'nyk – DSc, Professor, Head of the Department of Biotechnics and Engineering of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Natalia Golub – DSc, Associate Professor, Head of the Department of Bioenergy, Bioinformatics and Ecobiotechnology of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Valentyna Polishchuk – Ph.D., Associate Professor, Acting Head of the Department of Industrial Biotechnology and Biopharmacy of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Oleksiy Dugan – DSc, Professor, Professor of the Department of Industrial Biotechnology and Biopharmacy of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Yevgeniy Kuzminskiy – DSc, Professor, Professor of the Department of Bioenergy, Bioinformatics and Ecobiotechnology of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Svitlana Gorobets – DSc, Professor, Professor of the Department of Bioenergy, Bioinformatics and Ecobiotechnology of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Bogdan Morgun – DSc, Leading Researcher, Deputy Director of the Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine;
Vladyslav Shybetskyi – Ph.D., Associate Professor, Vice-dean for Scientific and International Activity of the Faculty of Biotechnology and Biotechnics of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute.

ORGANIZATIONAL COMMITTEE

Chairman:
Sergii Kostyk – Ph.D., Associate Professor, Associate Professor of the Department of Biotechnics and Engineering of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute.

Deputy Chairman:
Myroslava Kalinina – Ph.D., Senior Lecturer of the of the Department of Biotechnics and Engineering of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute.

Organizational committee members:
Tetiana Bohdan – Ph.D., Associate Professor, Associate Professor of the Department of Industrial Biotechnology and Biopharmacy of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Lolita Marynchenko – Ph.D., Associate Professor of the Department of Bioenergy, Bioinformatics and Ecobiotechnology of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Olena Syroid – Assistant of the Department of Industrial Biotechnology and Biopharmacy of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Diana Farfolameieva – Assistant of the Department of Industrial Biotechnology and Biopharmacy of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Dina Koltysheva – Postgraduate Student of the Department of Bioenergy, Bioinformatics and Ecobiotechnology of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute;
Vadym Pits – Postgraduate Student of the Department of Industrial Biotechnology and Biopharmacy of Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute.

Шановні колеги!

Рада вітати Вас на нашій щорічній науково-практичній конференції, яка цього року стала сімнадцятою, але вперше міжнародною, завдяки підтримці наших друзів – науковців з США, Польщі та Великобританії! Нам дуже важлива така підтримка, як і допомога багатьох країн світу, щоб відстояти свободу та незалежність України!

Як і минулого року, в умовах воєнного стану, ми не зможемо побачитися в стінах нашого університету, але з нетерпінням очікували зустрічі на сторінках збірки конференції з давніми друзями, а також знайомства з молодими науковцями, що починають свій шлях у захоплюючий світ Біотехнології XXI століття. Особливо хотілось би побачитися з Вами в нашому університеті цього року, коли КПІ ім. Ігоря Сікорського відзначає 125-річчя з дня заснування, а факультет біотехнології і біотехніки – 25-річчя першого випуску фахівців-біотехнологів. А ще – хотілося б сказати «святкує», а не «відзначає», але справжнє святкування доведеться відкласти до нашої Перемоги, для якої й ми маємо докласти зусиль у нашій роботі, у навчанні і особливо у підтримці наших захисників. Адже саме дякуючи нашим воїнам-героям ми маємо можливість жити та з надією дивитися у майбутнє!

А наше майбутнє – це наша молодь, яка, незважаючи на обставини, в які досі складно повірити, продовжує не лише навчатися, займатися суспільною та волонтерською діяльністю, а й проводити наукові дослідження, реалізовувати їх у магістерських дисертаціях та практичних розробках. Дуже вдячні Вам за цікаві та ґрунтовні матеріали у різноманітних напрямках біотехнології та біоінженерії, що Ви подали на нашу конференцію! Ваша допитливість та небайдужість, зацікавленість у нових знаннях та звершеннях, дає впевненість, що наше майбутнє у надійних руках.

Велика подяка науковцям – керівникам представлених досліджень та очільникам наукових закладів та підрозділів, які створюють фундамент для поєднання досвіду з енергією нашої талановитої молоді!

З повагою, побажаннями професійних успіхів і здобутків,
а також вірою у нашу спільну Перемогу,
декан факультету біотехнології і біотехніки,
доктор технічних наук, професор
Тетяна ТОДОСІЙЧУК

Dear Colleagues!

We are pleased to welcome you to our annual Scientific and Practical Conference, which this year became the seventeenth, but for the first time International, thanks to the support of our friends – scientists from the USA, Poland and Great Britain! Such support is very important to us, as well as the help of many countries of the world, to defend the Freedom and Independence of Ukraine!

As last year, in the conditions of martial law, we will not be able to see each other in the walls of our University, but we were looking forward to meeting old friends on the pages of the Conference collection, as well as getting to know with young scientists who are starting their way into the exciting world of Biotechnology of the 21st century. I would be especially like to see you at our University this year, when Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute marks the 125th Anniversary of its foundation, and the Faculty of Biotechnology and Biotechnics marks the 25th Anniversary of the first batch of biotechnologists. And also – I would like to say "celebrates" and not "marks", but the real celebration will have to be postponed until our Victory, for which we also have to make efforts in our work, in training and especially in supporting our Defenders. After all, it is thanks to our Heroes-soldiers that we have the opportunity to live and look to the future with hope!

And our future is our youth, who, despite the circumstances that are still hard to believe, continue not only to study, engage in social and volunteer activities, but also to conduct scientific research, implement it in master's theses and practical developments. We are very grateful to you for the interesting and thorough materials in various areas of biotechnology and bioengineering that you submitted to our conference! Your curiosity and indifference, interest in new knowledge and achievements, gives confidence that our future is in safe hands.

Much gratitude to the scientists - leaders of the presented studies and Heads of Scientific Institutes and divisions, who create a foundation for combining the experience with the energy of our talented youth!

With respect, wishes for professional success and achievements,
as well as faith in our joint Victory,
Dean of the Faculty of Biotechnology and Biotechnics,
Doctor of Engineering Sciences, professor
Tetiana TODOSIICHUK

ЗМІСТ
CONTENT LIST

ПЛЕНАРНІ ДОПОВІДІ. PLENARY REPORTS 18

Vadim Klyushnichenko DEVELOPMENT OF MODERN BIOLOGICS AND CELL THERAPY PRODUCTS THROUGH GLOBAL CDMOs 19

Igor Korobiichuk OPTIMIZATION OF CELL CULTURE EQUIPMENT DESIGNS USING CAD 22

Саблій Л.А. ВИБІР, РОЗРОБКА ТА ВПРОВАДЖЕННЯ ТЕХНОЛОГІЙ ОЧИЩЕННЯ ПРОМИСЛОВИХ СТІЧНИХ ВОД 25

СЕКЦІЯ 1. Промислова, харчова, сільськогосподарська та медична біотехнологія
SECTION 1. Industrial, food, agricultural and medical biotechnology 31

Atamanchuk A. R. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BIOMASS EXTRACTS OF XYLARIA LONGIPES NITSCHKE STRAINS UNDER SUBMERGED CONDITIONS 32

Baiko O. Klochko V. THE USE OF CRISPR/CAS SYSTEMS AS AN ALTERNATIVE TOOL TO OVERCOME ANTIBIOTIC RESISTANCE 35

Brodnikova E. R. Kalyuzhnyi Y. A., Klochko V. V. ANTIBIOTIC AND PHAGE THERAPY TO CONTROL BIOFILM FORMATION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS 39

Hryshchenko M. I. Starovoitova S. O. SELECTING THE OPTIMAL ENVIRONMENT FOR CULTIVATION OF LACTOBACILLUS RHAMNOSUS GG BIOMASS 42

Kliuchka I.V. THE USE OF SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES SYNTHESIZED BY *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMV AC-5017 ON INDUSTRIAL WASTE FOR THE DESTRUCTION OF BACTERIAL AND YEAST BIOFILMS 45

Kliuchka L.V. SYNERGISTIC EFFECT ON *CANDIDA* GENUS YEAST OF A MIXTURE OF ANTIFUNGAL DRUGS AND SURFACTANTS, SYNTHESIZED BY *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV B-7241 47

Kozlovska A. Konechna R. MEDICAL APPLICATIONS OF BACTERIAL VIRUS-BASED AND VIRUS-LIKE NANOPARTICLES 49

Maliarenko Y. V. Lipova I. I., Garmasheva I. L. ISOLATION AND CHARACTERISATION OF THE MICROBIOME OF SOURDOUGHS BASED ON DIFFERENT FLOUR TYPES 52

Nogin P.G. Nitovska I.O., Morgun B.V. A COMPARISON OF *Triticum spelta* GENOTYPES USING SSR GENOTYPING 54

Snihur N.O. Kovalchuk P.S. CLASSIFICATION OF BRAIN-ON-CHIP MICROSYSTEMS 58

Snihur N.O. Kovalchuk P.S., Morgun B.V. CLASSIFICATION OF VECTORS FOR GENE DELIVERY IN EUKARYOTIC CELLS 61

Ахмедова В.А. ОТРИМАННЯ ЛІКУВАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЛЕЙКОЗУ: МОЖЛИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ 64

Баланенко М.В. Мамілов С.О., Горго Ю.П. ТЕХНОЛОГІЯ ВИГОТОВЛЕННЯ АПЛІКАЦІЙ З ПОЛІМЕРНИМ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИМ ПОКРИТТЯМ КОМПЛЕКСНОЇ СОРБЦІЙНОЇ, ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ ТА РЕПАРАЦІЙНОЇ ДІЇ 68

Благодир Д. О. ВПЛИВ КОНКУРЕНТНИХ ГРАМНЕГАТИВНИХ БАКТЕРІЙ НА ЗДАТНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ІМВ В-7241 РУЙНУВАТИ БАКТЕРІАЛЬНІ БІОПЛІВКИ 70

Богацький О.В. Поліщук В.Ю. СКЛАД ЕФІРНОЇ ОЛІЇ, ЩО СИНТЕЗУЄТЬСЯ ПРОДУЦЕНТОМ РИБОФЛАВІНУ *EREMOTHECIUM ASHBYI*.....72

Богданович Т. А. Матвєєва Н. А. ОЦІНКА БІОБЕЗПЕЧНОСТІ ФЛАВОНОЇДВМІСНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ«БОРОДАТИХ» КОРЕНІВ *ARTEMISIA TILESII* LEDEB.....75

Бондаренко Б.О. Жукова В.С. ВПЛИВ ДОЩОВИХ ЧЕРВ'ЯКІВ НА МІКРОБНУ ПОПУЛЯЦІЮ У ПРОЦЕСАХ ВЕРМИКОМПОСТУВАННЯ 77

Ващук Н. Р. Ліновицька В. М. ЕНДОГЛЮКАНАЗНА АКТИВНІСТЬ БАЗИДІОМІЦЕТУ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* ЗА УМОВ ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ.....79

Власенко К.М. Кузнецова О.В., Рибак О. ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ СКВАШЕНИХ НАПОЇВ НА ОСНОВІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ.....81

Воробей А.М. Шевчук Т.А., Леонова Н.О. ІНТЕНСИФІКАЦІЯ СИНТЕЗУ ГІБЕРЕЛІНІВ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ІМВ В-7241 ТА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* ІМВ Ас-5017 ЗА НАЯВНОСТІ ЕКЗОГЕННОГО ЕРИТРИТОЛУ 84

Галицька І.Є. ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННННЯ *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR *KURSTAKI* ДЛЯ СТВОРЕННЯ БІОІНСЕКТИЦИДУ 86

Громнадська М. О., Горобець С. В., Фурсік А. В. ПОРІВНЯННЯ ВПЛИВУ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ ЗАЛІЗА Fe_3O_4 НА РІСТ ТВАРИН, РОСЛИН ТА ГРИБІВ ..90

Даллул Л.І., Гринюк І.І. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПРОДУЦЕНТА ДЛЯ ОТРИМАННЯ ІНТЕРФЕРОНУ ГАММА 93

Зубик П.Р. Клечак І.Р. ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ *PLEUROTUS OSTREATUS* НА РІДКИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ ІЗ ДОДАВАННЯМ ЕКСТРАКТІВ ТИРСИ БУКОЦВІТИХ У СТАЦІОНАРНІЙ КУЛЬТУРІ 96

Іванов М. С. Пирог Т. П., Шевчук Т.А. ВПЛИВ *BACILLUS SUBTILIS* БТ-2 НА БІОЛОГІЧНУ АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ІМВ В-7241.....99

Іванченко Ю.М. ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ, СТАБІЛІЗОВАНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИМИ РЕЧОВИНАМИ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ, ДЛЯ БОРОТЬБИ ІЗ ФІТОПАТОГЕНАМИ 101

Івченко Є.М., Кілочок Т.П., Мітіна Н.Б. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ НА БІОСИНТЕЗ АМІЛОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ СТРЕПТОМІЦЕТНОГО ПОХОДЖЕННЯ.....103

Кириченко Г.В., Левтун І.І. ОДЕРЖАННЯ ГІДРОЛІЗАТІВ БІЛКУ З ВОДОРОСТЕЙ РОДУ *SCENEDESMUS* 105

Кізіцька Т.О. Барштейн В.Ю., Бахлуков Д.О., Круподьорова Т.А. АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕКСТРАКТІВ ГРИБІВ *LENTINULA EDODES* ТА *LYOPHYLLUM SCHIMEJI* 109

Ковальницька К. О. Масалітіна Н. Ю. РІСТ ПОЛІСИМБІОТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ *ORYZAMYCES INDICI* НА ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ З ДОДАВАННЯМ РІЗНИХ ФРУКТОВИХ ДОБАВОК.....111

Ковбасенко Р.В. БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОСУХОСТІЙКОСТІ РОСЛИН ТОМАТУ.....113

Козак А.-М. Р., Чебан Л.М. *DUNALIELLA VIRIDIS* ЯК ДЖЕРЕЛО ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ІЗ АНТИМІКРОБНОЮ АКТИВНІСТЮ.....115

Колодій К. О., Громнадська М. О., Громнадська О. О. ВПЛИВ СИНТЕТИЧНОГО ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОЇДУ НА ОКРЕМІ ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ МИШЕЙ 117

Кощавко К.С. Лучаківська Ю.С., Коваль І.В. ОТРИМАННЯ ТРАНСГЕННИХ КОРЕНІВ *S. ALTISSIMA* L. ТА *S. ALBIDA* L. ДЛЯ НАКОПИЧЕННЯ ВИСОКОГО ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ 119

Країло О. О., Прозор А. В., Голембіовська О. І. ЗАСТОСУВАННЯ РНК-ІНТЕРФЕРЕНЦІЇ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ НЕВРОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ 122

Кузнецова О.В., Власенко К.М., Зозуля К.Р., Жмур І.В. ІНТЕНСИФІКАЦІЯ ПРОЦЕСУ НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ *PLEUROTUS ERYNGII* ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА РІДКОМУ ЖИВИЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ ПОВЕРХНЕВИМ СПОСОБОМ 125

Кузовлєва В.Д. Собко Ю.А., Шевченко Н.І. ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ НАКОПИЧЕННЯ ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУРЕЙ, ШТАМУ «БК/07» 129

Кулеш А.В. Стрілець О.П., Стрельников Л.С. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ БІОГЕННИХ СТИМУЛЯТОРІВ НА РОСЛИННІ БІООБ'ЄКТИ 131

Лазарець П.С., Поліщук В.Ю. ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ КУЛЬТИВУВАННЯ *E. ASHBYI* ТА *A.GOSSYPII* ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ РИБОФЛАВІНУ 133

Малєвська З. -М. В., Кваско О. Ю. ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ РОСЛИН МОНАРДИ ЛИМОННОЇ (*Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag.) 136

Мельничук Я.О., Старовойтова С.О. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ДІЄТИЧНОЇ ДОБАВКИ З ПРОБІОТИЧНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ НА ОСНОВІ КОРИСНОГО ШТАМУ БАКТЕРІЙ *Streptococcus salivarius* BLIS K12 139

Непошивайленко Н. О. Корнієнко І. М., Анацький А.С. ПОШУК ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ РОЗВИТКУ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ З МЕТОЮ ВИГОТОВЛЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО ХАРЧОВОГО ПРОДУКТУ 141

Олянін М.О., Тодосійчук Т.С. МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ *STREPTOMYCES ALBUS* ЯК ОСНОВИ ЗАСОБІВ ДЛЯ РОСЛИННИЦТВА 144

Оніщенко А.С., Даниленко С.Г. ВПЛИВ СУЛЬФАТУ МАГНІЮ ТА ЗАЛІЗА НА РОЗВИТОК *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 147

Отрода М. С. Тодоров Я. С. ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ РЕКОМБІНАНТНОГО ЛЮДСЬКОГО ФОЛІКУЛОСТИМУЛЮЮЧОГО ГОРМОНУ (ФСГ) У СИРОВАТКОВОМУ ТА БЕЗБІЛКОВОМУ КУЛЬТУРАЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ 149

Охмакевич А.М. Ключка Л.В. АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН, СИНТЕЗОВАНИХ *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* ІМВ Ac-5017 ЗА НАЯВНОСТІ ДРІЖДЖІВ РОДУ *SACCHAROMYCES* 152

Палеха Д.Ю. Нітовська І.О. ОСОБЛИВОСТІ ВИЯВЛЕННЯ ГЕНА ЗЕЛЕНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БІЛКА (*gfp*) В РОСЛИНАХ ТЮТЮНУ ТА КУКУРУДЗИ МЕТОДОМ ПЛР 154

Парфенюк М.А. , Іванов М.С. Пирог Т.П. ДЕСТРУКЦІЯ БІОПЛІВОК ПІД ВПЛИВОМ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН, СИНТЕЗОВАНИХ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ІМВ В-7241 ЗА НАЯВНОСТІ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* БТМ-1 157

Підкурганна О.Г. Зелена Л.Б., Шульга С.М. ПІДБІР ПРАЙМЕРІВ ДЛЯ ГЕНІВ ФЕРМЕНТІВ СИНТЕЗУ ГЕМА В ДРІЖДЖАХ *S. CEREVISIAE* АТСС-18824 159

Піць В.В. Соловйов С.О., Трохименко О.П., ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ МЕХАНІЗМІВ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ПРЕПАРАТІВ МЕТАБОЛІТІВ ЛАКТОБАКТЕРІЙ 162

Прилуцький С.П. ІНАКТИВОВАНІ ВАКЦИНИ ПРОТИ ВІРУСУ SARS-COV2 НА ПРИКЛАДІ CORONAVAC BIOTECH 165

Прозор А. В. Країло О. О. ВИДІЛЕННЯ ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ З МІКРООРГАНІЗМІВ ТА СПОСОБИ ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ ЯК БІОМАТЕРІАЛУ 167

Рачковська А.М. Креницька Д.І., Калашнікова М.В. ОПТИМІЗАЦІЯ МЕТОДИКИ ЕНЗИМ-ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ У ПЛАЗМІ КРОВІ ДОНОРІВ ЗА УМОВИ НАЯВНОСТІ АНТИ-SARS-CoV-2 IgG 171

Савченко Т.А., Гринюк І.І. ОСОБЛИВОСТІ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ТЕРАПЕВТИЧНИХ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ У ЛИСТКАХ ВИЩИХ РОСЛИН 174

Середюк А.Г., Чебан Л.М. ВПЛИВ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА БІОМАСУ *ACUTODESMUS DIMORPHUS* (TURPIN) TSARENKO 176

Скалоцька Я. І., Конечна Р. Т. НОВІ ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ В ІМУНОТЕРАПІЇ РАКУ «CAR-T КЛІТИННОЮ ТЕРАПІЄЮ» 178

Сметюх М.П. Соловйов С.О., Василенко В., Сидоренко М., Міцкевічюс С., Трохименко О.П. КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ КОМПЛЕКСУ МЕТИЛ-6-(КАРБАМОТІОІЛАМІНО)ГЕКСАНОАТ З ОСНОВНОЮ ПРОТЕАЗОЮ КОРОНАВІРУСУ 181

Соколов Д.О., Грегірчак Н.М. МУЛЬТИШТАМОВІ ПРОБІОТИКИ У ВЕТЕРИНАРІЇ ЯК АЛЬТЕРНАТИВА СТИМУЛЯТОРАМ РОСТУ 184

Тарнавська А.О., Дзигун Л.П. МІКОТОКСИНИ ТА ЇХ ПРАКТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ 187

Тодоров Я. С, Отрода М. С. ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯМ НАНОЗИМІВ В КОЛОРИМЕТРИЧНИХ ІМУНОАНАЛІЗАХ 190

Хабленко А.Д., Дуган О.М. ДОСЛІДЖЕННЯ АНТАГОНІСТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ДРІЖДЖІВ, ВИДІЛЕНИХ З КЕФІРНОГО ГРИБКА 193

Хабленко А.Д., Яловенко О.І., Потемська О.І. ВИВЧЕННЯ РОСТУ МІКРООРГАНІЗМІВ ПРИРОДНОГО КЕФІРУ НА РІЗНИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ 195

Чаленко М. А., Максімова А.Ю. ОГЛЯД МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНИХ ТА ІНЖЕНЕРНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ ПОКРАЩЕННЯ ВИРОБНИЦТВА СИРОЛІМУСУ 198

Чашка-Ратушна А. В., Ліновицька В. М. ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ЕКЗОГЛЮКАНАЗИ У БАЗИДІОМІЦЕТУ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* 202

Чаленко М. А. Маринченко Л. В., Потемська О. І., Даниленко С. Г. ВПЛИВ МАГНІТНОГО ПОЛЯ НА ВИЖИВАНІСТЬ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ АДСОРБОВАНОЇ НА ВИСОКОДИСПЕРСНОМУ КРЕМНЕЗЕМІ ПРОБІОТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ *Lactobacillus acidophilus,* Наріне 204

Чегринець А.І., Салій О.О., Любецький О.В. ВИБІР МАСЛЯНОГО АДЬЮВАНТУ ДЛЯ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ ІНАКТИВОВАНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ 207

Штогрин Н.А., Васіна Л.М. ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРОПІОНОВОКИСЛИХ ТА МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ В УНІФІКОВАНИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ 209

СЕКЦІЯ 2. Природоохоронні біотехнології, біоенергетика та біоінформатика
SECTION 2. Environmental biotechnologies, bioenergetics and bioinformatics 211

Vasylchenko Y., Malinauskaite L. REGULATION OF CRISPR-CAS TYPE III ACTIVITY BY MEMBRANE-ASSOCIATED PROTEINS WITH CARF AND SAVED DOMAINS 212

Голець Д.О., Зубченко Л.С. МЕТОДИ ПОПЕРЕДНЬОЇ ОБРОБКИ ОРГАНІЧНОЇ ФРАКЦІЇ ТВЕРДИХ ПОБУТОВИХ ВІДХОДІВ ДЛЯ АНАЕРОБНОГО БІОЛОГІЧНОГО ЗБРОДЖУВАННЯ 214

Григор'єв Р.В., Строганов О.О., Кузь О.П. ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТОДІВ МОДЕЛЮВАННЯ ВИХОДУ БІОМАСИ МІКРОВОДОРОСТЕЙ 218

Гудзовський А.О., Дем'яненко І.В. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПОСТІЙНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ ТА НАНОЧАСТИНОК МАГНЕТИТУ НА ПРОРОЩУВАННЯ НАСІННЯ ТА РІСТ РОСЛИНИ ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ *TRITICUM DURUM* 221

Жалілова Є.О., Лихенко О.К., Оболенська М.Ю. ТОП-ДВАДЦЯТЬ ДИФЕРЕНЦІЙНО ЕКСПРЕСОВАНИХ ГЕНІВ У ПЛАЦЕНТІ ЛЮДИНИ МІЖ ДРУГИМ І ПЕРШИМ ТРИМЕСТРАМИ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ ВАГІТНОСТІ 225

Кириченко К.С., Саблій Л.А. РОЗРАХУНОК ОПТИМАЛЬНИХ ПАРАМЕТРІВ БІОЛОГІЧНОГО ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД НА ОСНОВІ ПРОГРАМИ GPS-X 228

Кіка Л.С., Саблій Л.А. ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ЗАВОДІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ВОДНИХ РОСЛИН 231

Козар М.Ю. РЕМЕДІАЦІЯ ҐРУНТІВ, ЩО ВТРАТИЛИ РОДЮЧІСТЬ ВНАСЛІДОК ВІЙСЬКОВИХ ДІЙ 234

Kozlovska P., Krzemińska A., Miller T. PREDICTING PH IN WATER RESERVOIRS USING MACHINE LEARNING TECHNIQUES: A COMPARATIVE STUDY ON WATER QUALITY INDICES 237

Колтишева Д.С., Щурська К.О., Кузьмінський Є.В. ОТРИМАННЯ ЕЛЕКТРИЧНОГО СТРУМУ В ПОВНИХ МІКРОБНИХ ПАЛИВНИХ ЕЛЕМЕНТАХ ПРИ СОНЯЧНОМУ ОСВІТЛЕННІ 240

Кукуруза Є.О., Лихенко О.К., Оболенська М.Ю. АЛГОРИТМ ПОШУКУ ТКАНИНОСПЕЦИФІЧНИХ ГЕНІВ,ПРОДУКТИ ЯКИХ СЕКРЕТУЮТЬСЯ У КРОВ, НА ПРИКЛАДІ ПЛАЦЕНТИ ЛЮДИНИ 242

Mora N.V., Zelena L.B., Tkachuk N.V. EVALUATION OF THE SAFETY OF USING ENTEROCOCCI BASED ON THEIR COMPLETE GENOME ANALYSIS 245

Невгад В.В., Грецький І.О., Громозова Е.Н., Горго Ю.П. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ МОНІТОРИНГУ ЗМІН ІНТЕНСИВНОСТІ ЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM* 247

Неділько О.В., Зеленюк А.Н. ЗАСТОСУВАННЯ ШТУЧНОГО ІНТЕЛЕКТУ В БІОТЕХНОЛОГІЇ, СІЛЬСЬКОМУ ТА ЛІСОВОМУ ГОСПОДАРСТВІ 250

Nizhnyi D.A. PRODUCTION OF HYDROGEN AND ELECTRICITY IN A MICROBIAL FUEL CELL 253

Опаленик М.М., Громозова О.М., Грецький І.О., Горго Ю.П. ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ НИЗЬКОЧАСТОТНИХ ВАРІАЦІЙ ГЕОМАГНІТНОГО ПОЛЯ НА РЕАКЦІЮ МЕТАХРОМАЗІЇ ВОЛЮТИНОВИХ ГРАНУЛ ДРІЖДЖІВ 257

Симоненко Т.П., Зубченко Л.С. ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МАТЕРІАЛІВ ЕЛЕКТРОДІВ РОСЛИННО-МІКРОБНИХ ПАЛИВНИХ ЕЛЕМЕНТІВ 259

Ткаченко С.О., Юрченко В.О. КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛАСТІВЦІВ АКТИВНОГО МУЛУ В ПРИРОДОЗАХИСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЯХ 263

Філоненко О.О., Жукова В.С. МЕТОДИ ПОПЕРЕДНЬОЇ ОБРОБКИ ОСАДІВ СТІЧНИХ ВОД 267

СЕКЦІЯ 3. Біотехніка. Обладнання фармацевтичних та біотехнологічних виробництв. Ультразвук в біотехнології
SECTION 3. Biotechnics. Equipment of pharmaceutical and biotechnological industries. Ultrasound in biotechnology 271

Авдєєва Л.Ю., Декуша Г.В., Турчина Т.Я., Козак М.М. ЕНЕРГОЕФЕКТИВНИЙ СПОСІБ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО КОМПЛЕКСУ ПРИ ПЕРЕРОБЦІ ГРИБА ШИЇТАКЕ 272

Bachynska Y., Lutsenko T. INVESTIGATION OF THE EFFECT OF ULTRAVIOLET RADIATION ON BACTERIAL CELLS AND THEIR BIOSYNTHETIC ACTIVITY 275

Bursakov K., Kosova V. ACOUSTIC METHODS OF FOAMING CONTROL IN FERMENTATION PROCESSES 277

Горбунов А. Д., Шафаренко М. В., Яремчук А. В. ВПЛИВ ГІДРОДИНАМІКИ В БІОРЕАКТОРІ З РУХОМИМ НОСІЄМ БІОПЛІВКИ НА ПРОЦЕС ОДЕРЖАННЯ БІОГАЗУ 281

Зуєва Т.Р. ВИКОРИСТАННЯ СУБЛІМАЦІЙНИХ СУШАРОК ПІД ЧАС ВИСУШУВАННЯ ТЕРМОЛАБІЛЬНИХ МАТЕРІАЛІВ 284

Kalinina M.F., Kolisnichenko O.O. METHODOLOGY OF CONSTRUCTION AND RESEARCH OF HEAT EXCHANGERS IN NTOP PLATFORM AND ANSYS SYSTEMS ... 287

Kalinina M.F., Mykolaichuk V.V. HEAT EXCHANGER DESIGN WITH HIGH-PERFORMANCE GEOMETRY 290

Kinkai F., Melnyck V., Shafarenko M. STUDY ON THE DRYING OF APPLE PECTIN 293

Корнієнко І.М., Гуляєв В.М., Монченко О.В., Корнієнко Ю.М., Філімоненко О.Ю., Коваленко А.Л., Кускова В.В. ВПЛИВ УЛЬТРАЗВУКОВИХ КОЛИВАНЬ ТА УМОВ МОДУЛЬОВАНОЇ МІКРОГРАВІТАЦІЇ НА ПЕРЕБІГ ФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ В БІОТЕХНОЛОГІЇ ХЛІБА НА ЗАКВАСКІ З ПІДВИЩЕНИМ ТИТРОМ ЖИТТЄЗДАТНИХ КУЛЬТУР БРОДИЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ 296

Liashenko A. DEVELOPMENT AND IMPLEMENTATION OF DRYING PLANTS FOR ORGANIC WASTE PROCESSING 299

Макаренко А.А., Авдєєва Л.Ю. ДОСЛІДЖЕННЯ КАВІТАЦІЙНОГО ВПЛИВУ ПРИ ЕКСТРАГУВАННІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ 302

Опрофат В.О., Мельник В.М., Косова В.П. ВПЛИВ УЛЬТРАЗВУКУ НА ПРОЦЕС ІНТЕНСИФІКАЦІЇ РУХУ НАСІННЯ 305

Остапенко Ж.І., Волошенко І.В. ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ УТВОРЕННЯ КАВІТАЦІЙНИХ БУЛЬБАШОК ВІД ЧАСТОТИ УЛЬТРАЗВУКОВИХ КОЛИВАНЬ 308

Остапенко Ж.І., Ружинська Л.І. ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАГЕНТІВ НА ВИНИКНЕННЯ УЛЬТРАЗВУКОВОЇ КАВІТАЦІЇ ПРИ ЕКСТРАГУВАННІ БАР З РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ 311

Пшенична В. О., Поводзинський В.М. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ТЕРМІНАЛЬНОЇ СТЕРИЛІЗУЮЧОЇ ФІЛЬТРАЦІЇ У ВИРОБНИЦТВІ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ 314

Пшенична В. О., Поводзинський В.М. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ СТАДІЇ СТЕРИЛІЗУЮЧОЇ ФІЛЬТРАЦІЇ У ВИРОБНИЦТВІ БІОЛОГІЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ 317

Ружанський А.С., Костик С.І., Шибецький В.Ю. ГІДРОДИНАМІКА І ТЕПЛООБМІН ПРИ ПОПЕРЕЧНОМУ ОБТІКАННІ ПУЧКА ГЕЛІКОЇДНИХ ТРУБ 320

Сапіташ О.В., Гришкевич К.В., Кузь О.П. МАГНІТНО-РЕЗОНАНСНА ТОМОГРАФІЯ ПРИ ВИЯВЛЕННІ ТА ДОСЛІДЖЕННІ ГЕПАТОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ДИСТРОФІЇ 324

Семенюк С.М., Шибецький В.Ю. ПРОТОТИП КОНСТРУКЦІЇ БІОРЕКТОРА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ КЛІТИННИХ КУЛЬТУР 328

Турчина Т.Я., Макаренко А.А., Ткаченко О.В., Костянець Л.О. КРИТЕРІЇ ВИБОРУ РОЗПИЛЮВАЛЬНИХ СУШАРОК ДЛЯ ТЕРМОПЛАСТИЧНИХ ТА АДГЕЗІЙНИХ МАТЕРІАІВ 331

Марченко В.В., Скроцька О.І. ВИКОРИСТАННЯ БЕЗКЛІТИННОГО ДРІЖДЖОВОГО ЕКСТРАКТУ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* М437 ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА 333

ПЛЕНАРНІ ДОПОВІДІ

PLENARY REPORTS

DEVELOPMENT OF MODERN BIOLOGICS AND CELL THERAPY PRODUCTS THROUGH GLOBAL CDMOs

Vadim Klyushnichenko
Calibr at Scripps Research, La Jolla CA 92037, USA

The majority of innovative ideas and disruptive technologies are nucleated at academic and educational institutions. However, these organizations have limited budgets and lack the process development and manufacturing infrastructure, particularly if their advanced products belong to different technological platforms. This gap can be closed by contract development and manufacturing organizations (CDMOs), which remain crucial to new drug process development, manufacturing and commercialization.

Calibr at Scripps Research is a translational research institution developed to bring innovative research ideas from bench to clinic. The project portfolio of Calibr includes traditional synthetic small molecules, nucleosides, modified conjugated peptides, proteins, engineered monoclonal antibodies, vaccines, as well as cell and gene therapy products [1-3]. Our chemistry manufacturing and control (CMC) team works with multiple CDMOs located in the US, EU, India and China developing clinical drug candidates.

Some of Calibr's programs like switchable chimeric antigen receptor T-cells (sCAR-T) present the new paradigm in biopharmaceutical manufacturing. This type of controllable cell therapy presents higher persistency, memory, control, efficacy, and safety, while providing lower manufacturing cost compared to traditional CAR-T technology (Fig.1).

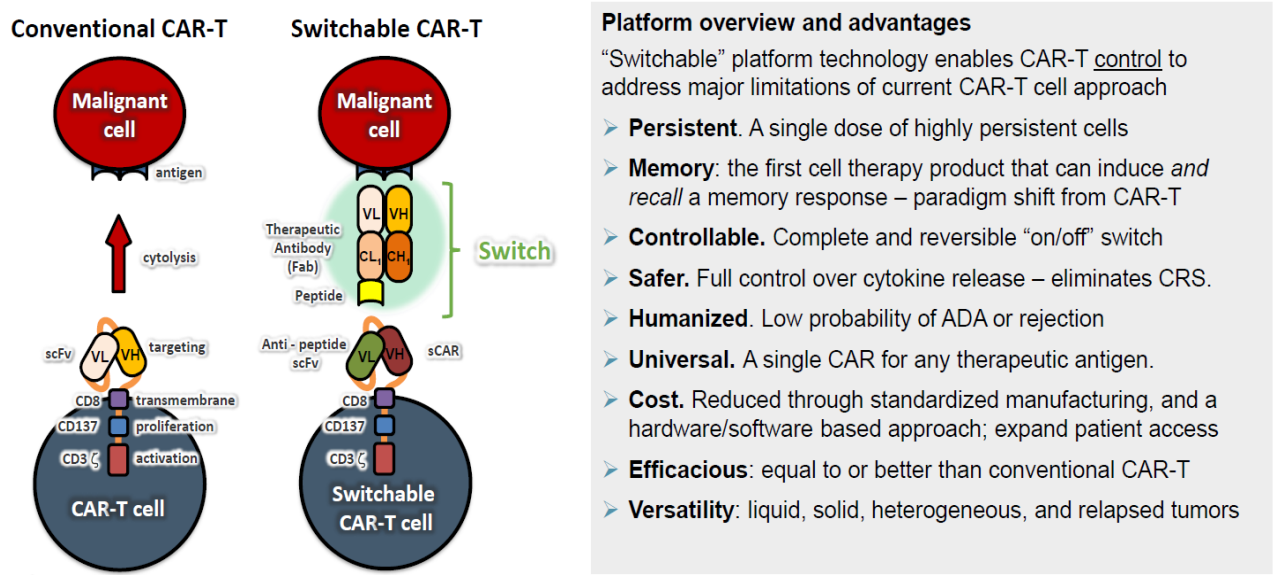


Fig. 1. Switchable CAR-T cell target platform

The first sCAR-T cell product developed at Calibr is currently undergoing clinical trials in the immuno-oncology field. The CMC programs required the involvement of five different CDMOs located in different parts of the world due to the unique nature of product components, CDMO expertise and cost (Fig.2).

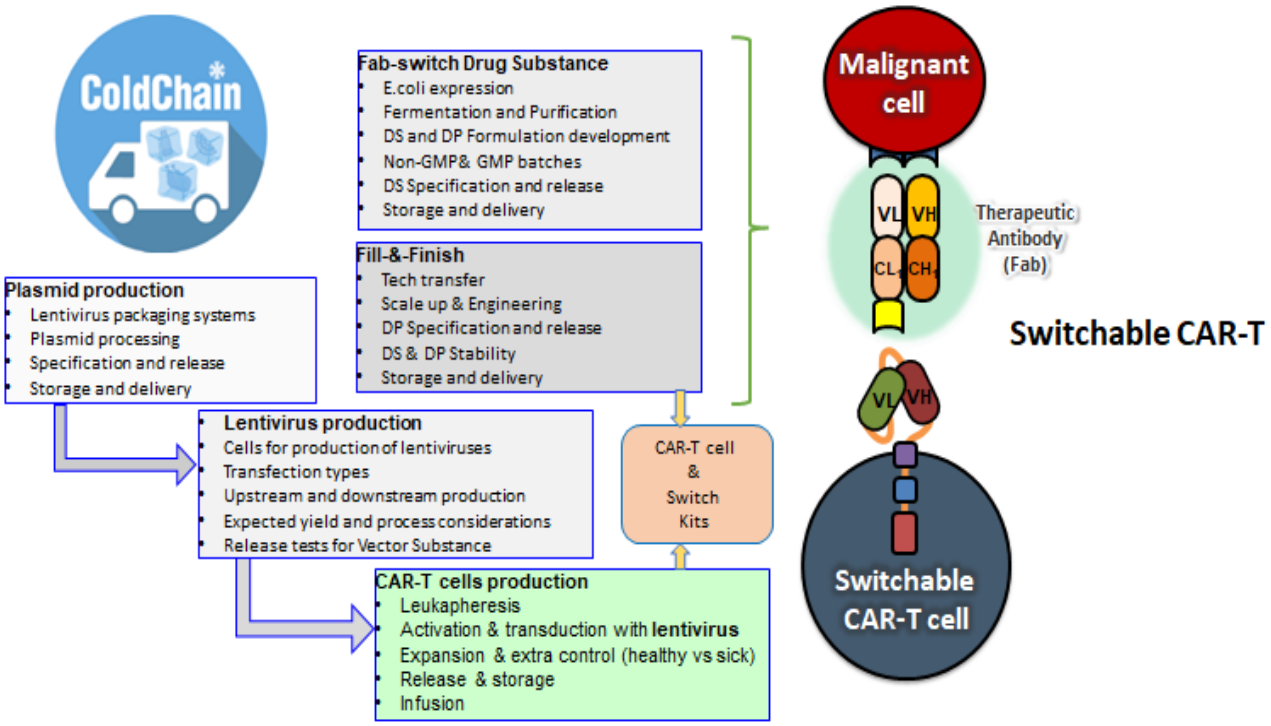


Fig.2. Process Development and GMP manufacturing of sCAR-T cell at five CDMOs

The CDMO selection process includes business documentation, GMP/Quality due diligence process, CDMO structure analysis, communication, technical expertise, as well as establishing the project timeline, and budget (Fig.3).

The scoring of following criteria from one to five units were used for the selection of CDMOs: technical capabilities, quality system, proposed project timeline, facility availability, project price, communication, history of prior collaboration. As the results five primary and several secondary companies the US, EU and China were selected based on the combined scoring. We have developed the analytical system for each of in-process tests, intermediate materials, reference standard, release of final drug substance and formulated drug product, as well as for the stability, comparability, and compatibility studies. The analytical data were used for the development of specifications and certificates of analyses based on the quality attributes required by the US Food and Drug Administration (FDA): appearance, identity, strength, purity/impurities, and safety.

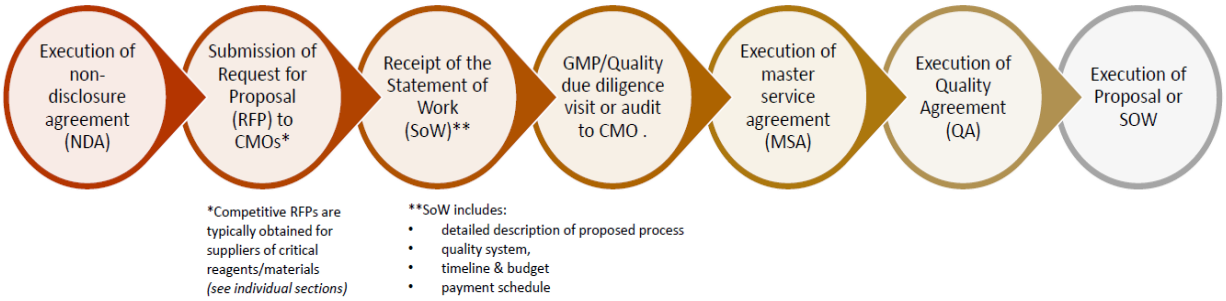


Fig.3. Business documentation and GMP/Quality due diligence activities required for the CDMO selection process

As a result, the sCAR-T cell product was manufactured and tested in Phase I clinical trials designed for patients with relapsed refractory leukemia and resulted in the high level of recovery even at late stages of the disease. This principle is currently used for the development of sCAR-T cell platform for the treatment of other oncological and autoimmune diseases.

References:

1. Methods for inducing chondrogenesis Patent CA3060518A1, Peter G. Schultz, Arnab K. Chatterjee, Timothy M. Wright, John Wisler, Vadim Klyushnichenko, 2018

2. A PSMA-targeted bispecific antibody for prostate cancer driven by a small-molecule targeting ligand. Sung Chang Lee, Jennifer S. Y. Ma, Min Soo Kim, Eduardo Laborda, Sei-Hyun Choi, Eric N. Hampton, Hwayoung Yun, Michelle T. Muldong, Christina N. Wu, Wenxue Ma, Anna A. Kulidjian, Christopher J. Kane, Vadim Klyushnichenko, Ashley K. Woods, Sean Joseph, John Wisler, Jing Li, Christina A. M. Jamieson, Peter G. Schultz, Chan Hyuk Kim, Travis S. Young, Sci Adv. 2021 Aug 11;7(33)

3. First in Human Study of an on/Off Switchable CAR-T Cell Platform Targeting CD19 for B Cell Malignancies (CLBR001 + SWI019). Liana Nikolaenko, Carolyn Mulroney, Peter A. Riedell, Ian W. Flinn, Jose Carlos Cruz, Rakhee Vaidya, Koen van Besien, Michael Emde, Vadim Klyushnichenko, Jonathan Strauss, Eduardo Laborda, Jing Li, Mohit Trikha, Peter G. Schultz, Travis S Young. *Blood* (2021), V.138 (Supplement 1): 2822.

OPTIMIZATION OF CELL CULTURE EQUIPMENT DESIGNS USING CAD

Igor Korobiichuk
The Łukasiewicz Research Network – Industrial Institute for Automation and Measurements PIAP, igor.korobiichuk@pw.edu.pl

The Łukasiewicz Research Network – Industrial Institute for Automation and Measurements PIAP is a well-known manufacturing organization based in Poland, specializing in the production of mobile robots for applications such as C-IED and reconnaissance. These robots are utilized by various agencies responsible for security, crisis management, and population protection, including the Army, Police, Fire Brigade, and others. With a presence in over 20 countries, the organization is recognized globally for its comprehensive solutions and high-quality products.

Apart from their mobile robots, the Industrial Institute for Automation and Measurements PIAP also collaborates with the Department of Biotechnology and Engineering to explore opportunities in the biotechnological and pharmaceutical industries. These researchs primarily focuses on process automation and identifying optimal parameters for biotechnological equipment through computer modeling. In particular, a novel bioreactor design was developed to cultivate anchorage-dependent cell cultures in a monolayer, which underwent computational simulation to test its hydrodynamics. This research utilized the k-e turbulence model in the CFX module (Ansys), as demonstrated in Figure 1 [1].

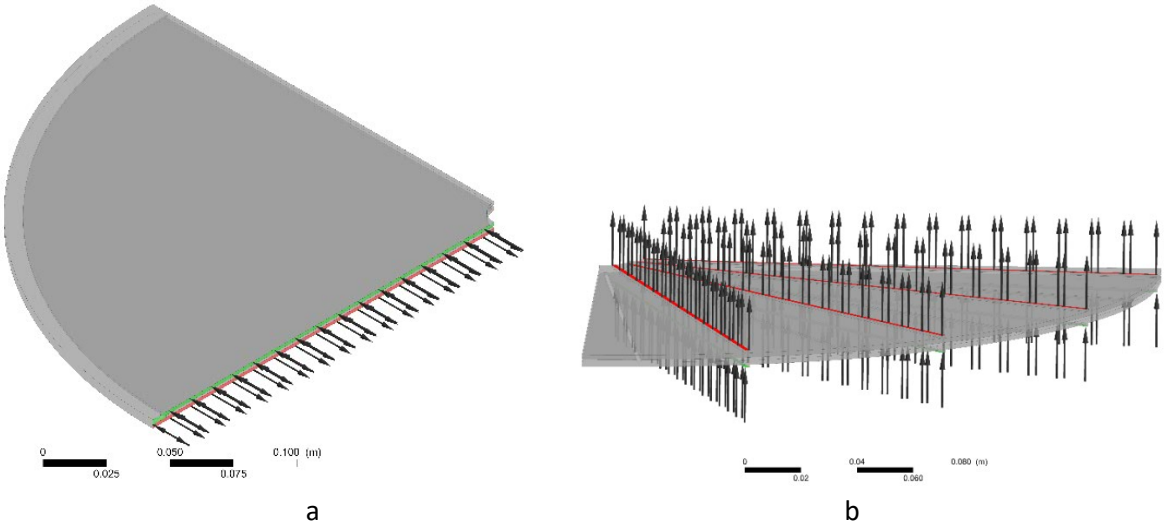


Fig. 1. Scheme of the boundary conditions (gray volume – liquid, green – inlet flow; red – outlet flow): a –developed design; b – Xpansion® (Pall) bioreactor

The research conducted demonstrated that the newly developed bioreactor design can provide optimal hydrodynamic conditions for the cultivation of biological agents. Specifically, the design significantly reduced the value of shear stresses in the area of cell anchoraging and growth compared to the reference bioreactor, Xpansion® (Pall). The stress exerted on the plate walls of the newly designed bioreactor was found to be 46% lower than that of the reference bioreactor (Figure 2). Overall, these findings suggest that the newly developed bioreactor design has the potential to offer superior conditions for the cultivation of anchorage-dependent cell cultures in a monolayer.

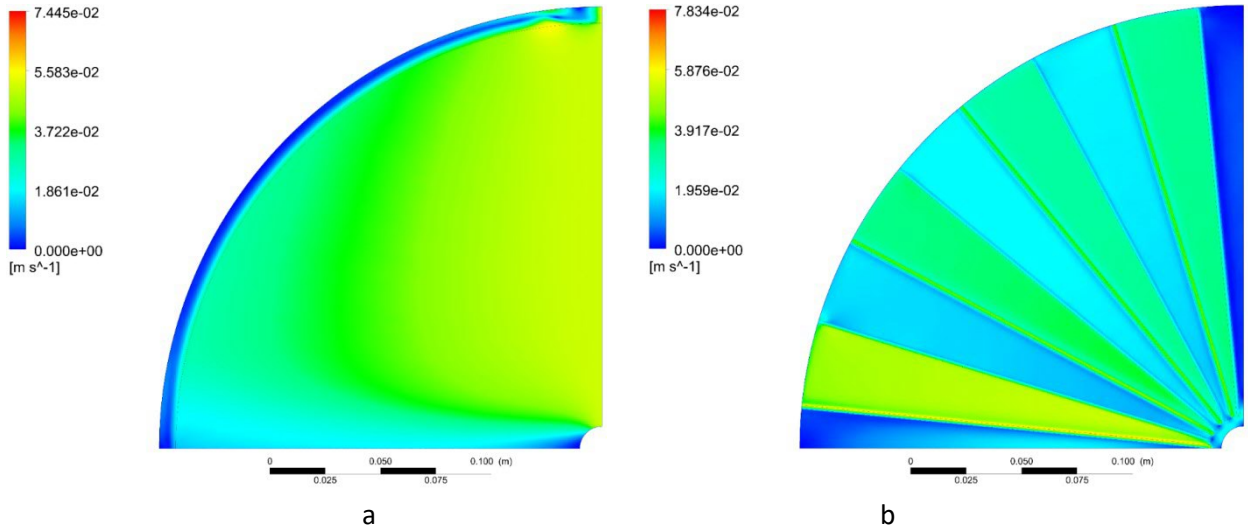


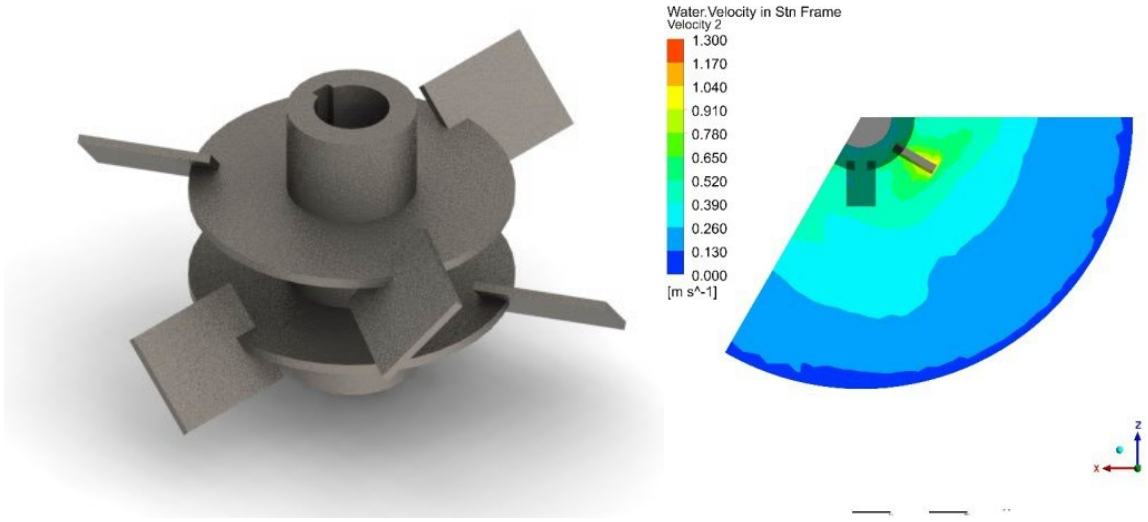
Fig. 2. Fluid velocity on the plate: a – developed bioreactor; b – Xpansion® (Pall) bioreactor

Collaboration with Department of Biotechnology and Engineering has embarked on an important research endeavor to optimize the construction of stirrers used in bioreactors for cell cultivation processes. A recently published article focused on the computer simulation of the hydrodynamics of a bioreactor with various types of open-type turbine mixers, including the standard open-type turbine mixer and a new design featuring a two-disc open-type turbine mixer with differently oriented blades at an angle of 45º and 135º. ANSYS software was used to simulate the hydrodynamics of each mixer design.

The new design of the open-type two-disk turbine mixer with differently oriented blades demonstrated a reduced probability of vortex formation during mixing, thus addressing a long-standing issue in bioreactor operation. Specifically, the proposed turbine design was found to produce minimal vortex formation, as illustrated in Figure 2 [2]. These findings highlight the potential of the newly designed mixer to enhance the efficiency and efficacy of bioreactors in cell cultivation processes.

The Łukasiewicz Research Network - Industrial Institute for Automation and Measurements PIAP has a robust focus on the automation and robotisation of production lines and factories. With our vast experience in developing and implementing new technologies, automation systems, production equipment, and special-purpose control and measurement instrumentation, we provide comprehensive and innovative solutions to various industries.

Our expertise in commissioning and upgrading current lines has made us a valuable partner for companies seeking to optimize their manufacturing processes. Our robotic workstations, both standard and research and development, are designed using professional engineering tools. Our areas of focus include robotised welding stations, palletising and pick & place stations, control and measurement stations, as well as robotised machine operation stations.



a b

Fig. 3 Proposed turbine stirrer: a – 3-D model; b – distribution of water velocity

In the pharmaceutical industry, our work is particularly crucial in ensuring aseptic conditions, reducing potential sources of contamination, and ensuring the output of products of the required quality.

In addition to our technical capabilities, we offer training, technological audits, and servicing to provide end-to-end solutions to our clients.

Future plans of collaboration between the Department of Biotechnology and Engineering and The Łukasiewicz Research Network – Industrial Institute for Automation and Measurements PIAP involve the implementation of proposed and validated through computer simulations designs in PIAP laboratories and preparing joint proposals to Calls held by the European Commission

References:

1. Korobiichuk, I., Semeniuk, S., Shybetskyi, V., Kostyk, S., Povodzinsky, V. (2022). Development of a Bioreactor Design for Cultivation of Cell Cultures. In: Szewczyk, R., Zieliński, C., Kaliczyńska, M. (eds) Automation 2022: New Solutions and Technologies for Automation, Robotics and Measurement Techniques. AUTOMATION 2022. Advances in Intelligent Systems and Computing, vol 1427. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-03502-9_32

2. Korobiichuk, I., Shybetskyi, V., Kostyk, S., Kalinina, M., Tsytsiura, A. (2022). Ways to Reduce the Creation of Vortex During Homogenization of Liquid Products. In: Szewczyk, R., Zieliński, C., Kaliczyńska, M. (eds) Automation 2022: New Solutions and Technologies for Automation, Robotics and Measurement Techniques. AUTOMATION 2022. Advances in Intelligent Systems and Computing, vol 1427. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-03502-9_33

ВИБІР, РОЗРОБКА ТА ВПРОВАДЖЕННЯ ТЕХНОЛОГІЙ ОЧИЩЕННЯ ПРОМИСЛОВИХ СТІЧНИХ ВОД

Саблій Л.А.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, larisasabliy@ukr.net

На сьогодні в Україні більшість промислових підприємств не мають власних очисних споруд для локального або повного очищення сильно забруднених виробничих стічних вод, що спричиняє вкрай негативні наслідки у разі відведення таких стічних вод на міські очисні станції або у природні водойми. В нормативних документах, що стосуються очищення стічних вод від забруднень, на відміну від нормативних документів країн ЄС, США та Канади, не враховано кілька важливих показників складу стічних вод, що напряму впливають на ефекти очищення стічних вод, властивості активного мулу та залишкові концентрації екологічно небезпечних забруднень в очищених стічних водах, які скидають у природні водойми. Серед таких показників - вміст специфічних речовин: антибіотиків, СПАР (синтетичних поверхнево-активних речовин), нафти та нафтопродуктів, жирів та жирних кислот тощо, а також вміст загального азоту і загального фосфору. Оскільки джерелом забруднення стічних вод такими речовинами є діяльність промислових підприємств, то необхідно проводити їх залучення до вирішення проблем очищення стічних вод шляхом впровадження технологій локального очищення найбільш забруднених виробничих стічних вод, зокрема, фармацевтичних, машинобудівних підприємств, підприємств деревообробної, легкої (шкірзаводи, заводи по виробництву шерстяних ковдр), харчової (олійні, м'ясопереробні та молокопереробні заводи) галузей.

Ефективність роботи міських очисних споруд (швидкість, ефекти очищення й глибина вилучення окремих забруднень, склад продуктів їх окиснення та ін.) залежить від багатьох чинників, серед яких одним з основних є хімічний склад стічних вод. Найчутливішою ланкою до негативного впливу виробничих стічних вод є активний мул аеротенків, а саме його основні технологічні властивості – здатність до окиснення забруднюючих речовин та до седиментації й відділення від очищеної води в процесі відстоювання. Цей вплив не завжди враховується при контролі складу промислових стічних вод, які відводяться в міську каналізацію, а також не враховують наявність в стічних водах біологічно активних сполук - антибіотиків, біоцидів, інгібіторів та ін. Нехтування вказаними характеристиками спричиняє цілу низку вкрай негативних наслідків саме для водоканалів - зниження ефективності очищення міських стічних вод і збільшення експлуатаційних витрат для досягнення необхідних показників, перевищення ГДС (гранично допустимих скидів) при скиданні очищених стічних вод у природні водойми (показники, які жорстко контролюються екологічними службами), "спухання" активного мулу з перспективою його подальшої втрати.

В Україні є підприємства, які забезпечують локальне очищення стічних вод після виробництва рідких медпрепаратів, наприклад, ПАТ "НВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод" (м. Київ), а також підприємства, які розпочали

роботи, що спрямовані на вирішення питання локального очищення стічних вод від антибіотиків (цефалоспоринової групи), зокрема ПАТ Хімфармзавод «Червона зірка» (м. Харків). Окрім фармацевтичних заводів локальне очищення почали впроваджувати підприємства з таким видом діяльності, як машинобудування, виробництво шерстяних ковдр, харчові виробництва: м'ясопродуктів, олії, та ін. Низка підприємств пішла далі та запровадила комплексну технологію, що включає попереднє фізико-хімічне та наступне біологічне очищення з використанням запропонованих нами сучасних технологічних рішень з глибоким видаленням органічних забруднюючих речовин, сполук азоту і фосфору та доведенням концентрацій забруднювачів у очищеній воді до нормативних вимог для її відведення у природні водойми. Як приклад, можна навести шкіряний завод «Світ шкіри» в м. Болехів Івано-Франківської області, де за нашими рекомендаціями впроваджено технологію послідовного аноксидно-аеробного біологічного очищення з використанням нітратного рециклу та іммобілізованих мікроорганізмів в діючому аеротенку. Також на картонно-паперовій фабриці в м. Понінка Хмельницької області за результатами наших досліджень впроваджено в проєкт та виконано реконструкцію первинних відстійників в біокогулятори з попередньою аерацію в якості І ступеня очищення і запропоновано наступну біологічну стадію з продовженою аерацією стічних вод та активного мулу в аеротенку та регенераторі для очищення стічних вод підприємства (за продуктивності очисної станції 7000 $м^3$/добу). Як додаткове джерело азоту і фосфору (за відсутності таких елементів у стічних водах) були використані добавки реагентів, які містять ці елементи. В результаті впровадження розробленої нами технології було досягнуто зниження показників стічних вод фабрики за ХСК (хімічне споживання кисню), мг O_2/$дм^3$, від початкових значень 840-1760 до 70-80; за $БСК_5$ (біологічне споживання кисню протягом 5 діб), мг O_2/$дм^3$, від 510-700 до 10-15. Очевидно, що показники очищеної води не перевищують встановлені нормативи для скидання в річку.

В КПІ ім. Ігоря Сікорського на кафедрі біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології науковою групою під керівництвом д.т.н., професора Саблій Л.А. у складі: Жукова В..С., к.т.н., доц.; Козар М.Ю., к.т.н., доц.; Коренчук М.С., PhD, були проведені дослідження (з практичним впровадженням) у двох напрямках: 1 – дослідження процесів фізико-хімічного очищення виробничих стічних вод низки промислових підприємств (результати впроваджені на фармацевтичному, машинобудівному заводах, фабриці по виробництву шерстяних ковдр, олійному та м'ясопереробному заводах у м. Харкові в 2020–2022 рр.) від антибіотиків, іонів важких металів та ін. забруднювачів, які перешкоджають біологічному процесу, та розробка технологій локального очищення перед скиданням попередньо очищених стічних вод в мережу водовідведення міста [1-3]; 2 – дослідження процесів біологічного очищення стічних вод низки промислових підприємств з глибоким видаленням сполук азоту і фосфору за використання іммобілізованих мікроорганізмів для високоефективного очищення стічних вод і безпечного відведення їх у природні водойми [4,5] (результати впроваджені на шкіряному заводі в Івано-

Франківській обл., картонно-паперовій фабриці в Хмельницькій обл., молокопереробному заводі в Рівненській обл., на газовидобувній станції в Полтавській області).

Як показали результати досліджень, проведених, згідно першого напрямку, на прикладі очищення виробничих стічних вод фармацевтичного підприємства (АТ «Біолік», м. Харків) [1], найбільше зниження показника ХСК, як свідчить рис. 1, спостерігали в процесах коагуляції забруднюючих речовин, що містяться в стічних водах, і відстоювання. Для коагуляції використовували мінеральні коагулянти на основі сульфату заліза ІІІ і сульфату алюмінію з коректуванням показника pH для досягнення ізоелектричної області для найбільш повного утворення гідроксидів заліза ІІІ й алюмінію, їх коагуляції та очищення стічних вод від органічних забруднюючих речовин. Ефекти очищення за показником ХСК в результаті коагуляції та відстоювання стічних вод у випадку використання сульфату заліза ІІІ становили 76,0% і 72,2% за початкових значень показника ХСК неочищених стічних вод, відповідно, 90 і 120 мг/дм^3.

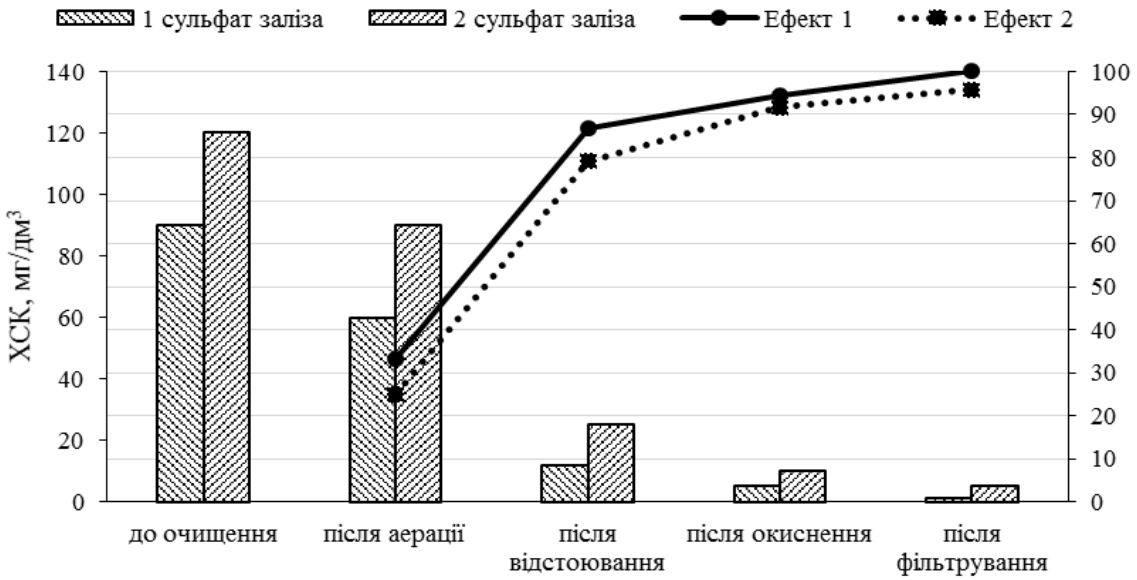


Рис. 1. Зміна показника ХСК виробничих стічних вод фармацевтичного підприємства і ефекту очищення за ХСК за використання для очищення технології «аерація – коагуляція сульфатом заліза ІІІ – відстоювання – окиснення – фільтрування»: ефект 1 визначено за ХСК в неочищеній стічній воді 90 мг/дм^3 у кожному процесі відносно даного значення; ефект 2 – за ХСК в неочищеній стічній воді 120 мг/дм^3

Результати досліджень за використання сульфату алюмінію показали менші ефекти очищення за показником ХСК – 71,9 і 65,5%, коли початкові ХСК були, відповідно, 90 і 120 мг/дм^3. Отже, певну перевагу має коагулянт на основі сульфату заліза ІІІ проти сульфату алюмінію. Збільшення початкової величини показника ХСК в неочищеній стічній воді зменшує ефект видалення органічних речовин за ХСК при використанні коагулювання і відстоювання на 4-6,5%.

Використання інших процесів очищення за технологічною схемою, яку досліджували, дозволило знизити ХСК на 25-33,3% після аерації, на 58-61% після окиснення пероксидом водню, до 100% в результаті фільтрування.

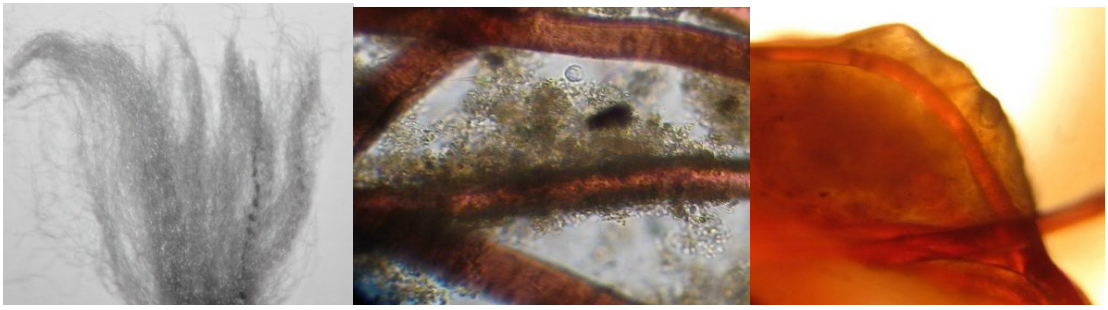
На основі отриманих результатів розроблено технологію, установлено параметри процесів (тривалість, витрата повітря на аерацію, доза реагентів, швидкість фільтрування, висота фільтрувального завантаження, режим промивки фільтрів, кількість утвореного осаду та ін.). Технологія включає послідовні процеси фізико-хімічного очищення стічних вод – усереднення, коагуляцію, відстоювання, окиснення пероксидом водню, фільтрування.

Застосування фармацевтичними підприємствами розробленої технології локального очищення стічних вод від антибіотиків та супутніх їм речовин призведе до суттєвого зниження небезпеки перевищення ГДС в місці скиду стічних вод, очищених на міських очисних станціях, зниження експлуатаційних витрат на досягнення ГДС, зменшення загрози “спухання” активного мулу та пов'язаних з ним експлуатаційних та економічних витрат.

Згідно другого напрямку, нами було проведено дослідження з іммобілізації мікроорганізмів активного мулу на носіях та встановлення технологічних параметрів біологічного очищення стічних вод промислових підприємств з використанням іммобілізованих мікроорганізмів в різних кисневих умовах (анаеробних, аноксидних, аеробних).

Одним із шляхів підвищення ефективності біологічного очищення стічних вод (від органічних речовин, сполук азоту, фосфору та ін.) є збільшення концентрації активного мулу в об’ємі аеробного біореактора (аеротенка), що дозволяє підвищити окисну потужність споруди, зменшити тривалість процесу та забезпечує зниження економічних витрат на очищення стічних вод. Для цього використовують іммобілізовані, прикріплені до носіїв мікроорганізми [5]. Як носії слугують інертні, не розчинні у воді структури, якими заповнюють об’єм очисної споруди, або його частину. Носії повинні мати високорозвинену поверхню, яка є ідеальною для прикріплення й утримання активного мулу.

В якості носіїв іммобілізованих мікроорганізмів було використано капронові волокна (в джгутах) з питомою площею поверхні – 4000-5000 $м^2/м^3$, діаметром джгуту – 1,5-2,5 мм, середнім діаметром мікроволокна – 100 мкм (рис. 2).



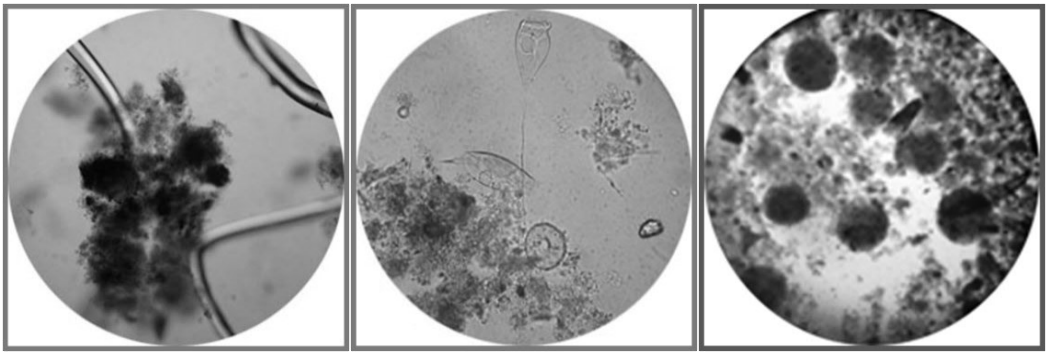
а ***б*** ***в***

Рис. 2. Носій: *а* – знімок капронових волокон; *б, в* - мікрознімки волокон з іммобілізованою біомасою, х200 (*б*), х100 (*в*)

Для очищення промислових стічних вод з високим вмістом органічних речовин (шкірзаводів, м’ясопереробних та молокозаводів) було запропоновано двохстадійну технологію біологічного очищення з використанням іммобілізованих мікроорганізмів в послідовних анаеробних і аеробних умовах. Дослідження параметрів проводили на стічних водах молокозаводу на експериментальних моделях анаеробного та аеробного біореакторів з іммобілізованими мікроорганізмами. В результаті було встановлено такі раціональні параметри роботи анаеробного біореактора за початкового ХСК

стічної води 4000-4500 мг/дм^3: гідравлічне навантаження – 2-3 м^3/(м^3·добу); окисна потужність – 7200-8000 г ХСК/(м^3·добу); питома швидкість деструкції – 40-45 мг ХСК/(г·год); тривалість – 10-12 год (в метантенках потрібно 10-20 діб); концентрація іммобілізованої біомаси – 15-20 г/дм^3, що забезпечують ступінь очищення за ХСК до 70%. Для окиснення органічних речовин, які залишились в стічній воді після проходження анаеробного процесу, було використано аеробний метод очищення з іммобілізованими мікроорганізмами. Експериментальну перевірку аеробної стадії виконували в моделі аеробного біореактора. В аеробних умовах відбувається не тільки окиснення залишкових органічних речовин, а й процеси нітрифікації та дефосфотації. Амонійний азот окиснюється до нітритів і нітратів. В результаті було встановлено такі раціональні параметри аеробного процесу за початкового ХСК стічної води 1200-1350 мг/дм^3: гідравлічне навантаження – 1,5-2 м^3/(м^3·добу); окисна потужність – 500-1300 г ХСК/(м^3·добу); питома швидкість деструкції – 18-23 мг ХСК/(г·год); тривалість – 12-14 год; концентрація іммобілізованої біомаси - до 10 г/дм^3 (в аеротенках 2-3 г/дм^3), що забезпечують ступінь очищення за ХСК до 94-96%. В результаті очищення стічних вод на виході з аеробного біореактора було отримано показники: ХСК - 50-80 мг/дм^3; БСК$_{повн}$ – 15-20 мг/дм^3; завислі речовини – до 15 мг/дм^3; сполуки азоту і фосфору - в межах норми для відведення у природні водойми. В результаті перебігу процесів очищення в послідовних анаеробних і аеробних умовах спостерігали зростання мінеральної складової активного мулу, про що свідчило збільшення зольності біомаси, %, в анаеробних умовах – від 30 до 40%, в аеробних – до 60%.

В анаеробному та аеробному біореакторах спостерігали утворення біообростань на носіях (рис. 2, *б*; 2, *в*; 3, 1), в анаеробному за тривалої роботи (протягом 2 років) відбувалось формування гранульованого мулу (рис. 3, 3), в аеробному був присутній також вільноплаваючий активний мул (рис. 3, 2).



1 **2** **3**

Рис. 3. Мікрознімки (х200):
1 – біообростань носіїв; 2 – вільноплаваючого активного мулу в аеробних умовах; 3 – гранульованого активного мулу в анаеробних умовах

В біообростаннях носіїв спостерігали зооглейні скупчення бактерій на поверхні волокна завтовшки 0,1-0,6 мм. Серед бактерій були численні представники родів: *Pseudomonas, Bacterium*, *Micrococcus, Bacillus*, *Corinebacterium*, *Thiobacillus*. У вільноплаваючому активному мулі в аеробних умовах були присутні бактерії родів *Nitrosomonas, Nitrobacter*, також спостерігали гідробіонтів вищих трофічних рівнів: раковинні кореневіжки, кругловійчасті інфузорії, коловертки (рис. 3, 2) та ін., – типових представників активного мулу. За стабільного режиму роботи відбувалось саморегулювання

чисельності популяцій гідробіонтів в результаті виїдання їх у харчових ланцюгах по типу «хижак-жертва». Внаслідок виїдання бактеріальної частини біомаси гідробіонтами вищих трофічних ланок харчових ланцюгів біоценозу очисної споруди відбувається зменшення біомаси та збільшення мінеральної частини, що було підтверджено результатами досліджень.

Утворений в анаеробному біореакторі гідродинамічний режим сприяв формуванню гранульованого активного мулу (рис. 3, 3) з розміром гранул 2-2,5 мм, високою концентрацією сухої речовини – до 50 г/дм^3 і малим муловим індексом – до 57 см^3/г. Утворення гранульованого активного мулу дозволяє збільшити концентрацію активного мулу в споруді, ефективність очищення від органічних речовин і полегшує відокремлення гранул мулу від очищеної води.

На підставі отриманих результатів розроблено методики іммобілізації на носіях мікроорганізмів з активного мулу, відібраного на діючих очисних спорудах, приготування сухих препаратів іммобілізованих мікроорганізмів і досліджено процес біологічного очищення стічних вод з використанням сухих препаратів. Результати були використані під час пуску в роботу аеротенків, для відновлення роботи споруд після перерви (наприклад, на очисних спорудах підприємств із сезонною роботою, баз відпочинку, санаторіїв та ін.) та для реконструкції очисних споруд населених пунктів і баз відпочинку Шацького національного природного парку (сумісно з проєктною організацією ТОВ «ОСТВА», м. Рівне).

В результаті проведених нами досліджень було розроблено та впроваджено на промислових підприємствах ефективні технології попереднього локального очищення промислових стічних вод з використанням фізико-хімічних методів (видалення антибіотиків, іонів важких металів тощо) і біологічного очищення з використанням іммобілізованих мікроорганізмів з високими ефектами видалення органічних речовин за показниками ХСК і БСК, завислих речовин, сполук азоту, фосфору та ін., економією енергетичних витрат до 40-45%, забезпеченням високої якості очищеної води у відповідності з чинними нормами скиду в міську систему водовідведення та у природні водойми.

Список використаної літератури:

1. Sabliy L., Zhukova V. Effective technology of pharmaceutical enterprises wastewater local treatment from antibiotics / Biotechnologia acta, v. 13, No 3, 2020. – P. 81-88.

2. Sabliy L., Zhukova V., Konontsev S., Obodovych O., Sydorenko V. Problems of soapstock treatment of vegetable oil productions and their solutions / Biotechnologia acta. 2021, V. 14, No 4, P. 80-88.

3. Sabliy L., Zhukova V. Improvement of the thechnology of local wastewater treatment of the meat plants / Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування: колективна монографія / за ред. проф. Мальованого М.С. - Київ, Ярощенко Я.В., 2022, 566 с. – С. 400-410.

4. Sabliy L., Kuzminskiy Y., Zhukova V., et al. New approaches in biological wastewater treatment aimed at removal of organic matter and nutrients / Ecol. Chem. Eng. S., 2019; 26 (2): 331-343.

5. Sabliy L.A., Zhukova V.S. Efficient treatment of industrial wastewater using immobilized microorganisms / Water Supply and Wastewater Disposal. Designing, Construction, Operation and Monitoring. – Monografie / Edited by Beata Kowalska, Dariusz Kowalski. – Wydawnictwo Politechniki Lubelskiej. – Lublin, 2022. – P. 248-262.

Секція 1

ПРОМИСЛОВА, ХАРЧОВА, СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКА, ФАРМАЦЕВТИЧНА ТА МЕДИЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ

Section 1

INDUSTRIAL, FOOD, AGRICULTURAL AND MEDICAL BIOTECHNOLOGY

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BIOMASS EXTRACTS OF XYLARIA LONGIPES NITSCHKE STRAINS UNDER SUBMERGED CONDITIONS

Atamanchuk A. R.
M.G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine, atamalyssa@gmail.com

Introductions. Fungi have been reported to exhibit significant antioxidant activities due to the content of such compounds as phenolic acids, phenylpropanoids, flavonoids, lignin, melanin, tannins etc. [1]. For that reason, there is an increasing interest in exploring biological activities, including antioxidants of fungal extracts at different developmental stages. Extensive research has been performed on Basidiomycetes [2,3].

However, there is limited information available on the production of antioxidant compounds by xylariaceous fungi cultivated under different conditions, although considerable evidence that these fungi are producers of a variety of bioactive secondary metabolites exists [4,5]. Therefore, the aim of this study was to assess and compare the antioxidant potential of the mycelia of two strains of *Xylaria longipes* Nitschke in submerged culture. In this study, the antioxidant production of the methanolic, ethanol, and ethyl acetate extracts was determined.

Materials and methods. Strains isolation and cultivation. Fungal strains were isolated from the entostromatal tissue of *X. longipes* fruiting bodies, collected in different regions of Ukraine, and preserved in the *IBK* Mushroom Culture Collection [6,7]. The details of the origin and cultural-morphological characteristics of the obtained mycelial cultures have been described by us previously [8].

Mycelial biomass production for the experiment was carried out under submerged cultivation conditions using glucose-yeast-peptone (GYP) nutrient medium as follows (g/L): glucose 25; peptone 3; yeast extract 3; $MgSO_4$ 0,25; KH_2PO_4 1; K_2HPO_4 1; pH 7.

The inoculum was initially prepared by growing out mycelium of *X. longipes* IBK 2718 and 2726 for 7 days at 25 ± 1 °C on a glucose-yeast-peptone agar medium (GYPA) containing 20 g/l agar-agar. The obtained mycelium was homogenized and inoculated in 250 ml Erlenmeyer flasks (in 6 duplicates), containing 50 ml of GYP medium (10% v/v) and cultivated on a laboratory shaker under the following conditions: temperature 23 ± 1 °C, agitation speed 120 rpm, for 9 days. The mycelial biomass was harvested by filtration and subjected to solvent extraction as described below.

Extraction. Mycelial biomass of *X. longipes* was extracted by ethyl acetate, ethanol (96%), and methanol. A known weight of the powdered mycelium was extracted using solvents in a ratio of 1:5 (w/v) for 24 hours at room temperature (20±1ºC) thrice. The resulting extracts were centrifuged to remove insoluble impurities and evaporated using a vacuum rotary evaporator (40°C). The residues were dissolved in solvent in ratio 1:1 (w/v), and then stored at 4°C prior to further analysis.

DPPH antioxidant assay Free-radical scavenging activity of obtained extracts were measured by 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) assay [9]. An aliquot of 100 µl of extract was mixed with 2900 µl of DPPH solution (120 µM) in methanol and incubated in darkness at 37 ºC for 30 min. The absorbance was recorded at 517 nm.

Inhibition of free radical by DPPH in percentage (I%) was calculated according to the equation:

I(%) = ($(A_0-A_1)/A_0$)×100, where A_0 is the absorbance of the control reaction (containing all reagents except the test compound), and A_1 is the absorbance of the test compound. All tests were carried out in triplicate.

Results and discussion. The DPPH method is based on the reduction of 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl in the presence of a hydrogen-donating antioxidant due to the formation of the non-radical form. It was established that all extracts from *X. longipes* IBK 2718 and 2726 notably reduced the concentration of DPPH free radical (Table 1). The antioxidant activity was influenced by the solvent used to extract the biomass and the active compounds extracted from the mycelium.

Table 1. DPPH scavenging activities of *X. longipes* biomass extracts, obtained by different solvents.

Strain	DPPH scavenging activities of extracts (%)		
	Ethyl acetate extract	Ethanol extract	Methanol extract
IBK 2718	41,28	52,63	89,5
IBK 2726	51,92	86,82	88,99

Methanol extracts showed almost double the activity of ethyl acetate extracts. The performance of methanol extracts was the highest for both *X. longipes* strains and amounted to 89,5% and 88,99% for IBK 2718 and 2726, respectively. The higher efficacy of the methanol extract could be attributed to the extraction of more components that are capable of donating hydrogen.

In comparison, extracts of *Xylaria* sp. YX-28, an endophyte living on *Ginkgo biloba*, showed noticeably weaker antioxidant activity [9]. The authors indicated 66,29% and 29,66% of radical-scavenging activities of cultivated fruiting bodies extracted with methanol and ethyl acetate, respectively.

Literature data on another endophyte, *X. feejeensis* HMJAU22039, isolated from *Tectona grandis*, indicate that maximum antioxidant activity of DPPH was obtained by methanolic extraction (73.86%), followed by ethyl acetate and chloroform extract with the values of 69,24% and 60,23% [10]. It is worth noting that in both of the mentioned studies, the authors used other cultivation conditions than those of the present study, which also may have influenced the free-radical scavenging activity.

In our study, a considerable difference in reducing power was noted between ethanol extracts of studied strains, which may be a result of strain specificity. Overall, mycelial biomass of *X. longipes* 2726 showed higher antioxidant activity after extraction with ethanol and ethyl acetate, than strain IBK 2718. However, for the last one, the highest value of free radical reduction was recorded among all the extracts we studied.

Conclusions. From the data obtained, it was established that both strains of *X. longipes* possessed reducing capacity, showing promising activity for further application. It was observed that the reducing ability of fungal extracts varied depending on the solvent, which is assumed to result from the different antioxidant compounds (and their concentrations) isolated by types of extraction. Methanol

extracts demonstrated the strongest reducing power, amounting to 89,5% and 88,99% for strains IBK 2718 and 2726, respectively. Compared to the literature data for other representatives of the genus *Xylaria* cultivated under different conditions, these values appear to be significant. Overall, *X. longipes* strains IBK 2718 and 2726 proved to be promising producers of natural antioxidants, while submerged cultivation was a suitable method for their production.

References:

1. Smith H., Doyle S., Murphy, R. Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. Food Chemistry 2015; 185:389–397.
2. Krupodorova T, Barshteyn V, Sevindik M. Antioxidant and antimicrobial potentials of mycelial extracts of *Hohenbuehelia myxotricha* grown in different liquid culture media. BioTechnologia 2022; 103(1):19–28.
3. Mustafin K., Bisko N., Blieva R., et al. Antioxidant and antimicrobial potential of Ganoderma lucidum and Trametes versicolor. Turkish Journal of Biochemistry 2022; 47(4): 483–489.
4. Whalley A. J. S., Edwards R. L. Secondary metabolites and systematic arrangement within the Xylariaceae. Canadian Journal of Botany 2011; 73(S1):802–810.
5. Schneider G., Anke H., Sterner O. Xylaramide, a New Antifungal Compound, and Other Secondary Metabolites from Xylaria longipes. Zeitschrift Für Naturforschung 1996; 51(11–12):802–806.
6. Bisko N.A., Lomberg M.L., Mytropolska N.Yu., Mykchaylova O.B. The IBK Mushroom Culture Collection Kyiv: Alterpres, 2016.
7. Bisko N, Lomberg M, Mykchaylova O, Mytropolska N (2022). IBK Mushroom Culture Collection. Version 1.5. The IBK Mushroom Culture Collection of the M.G. Kholodny Institute of Botany. Occurrence dataset URL: https://doi.org/10.15468/dzdsqu (accessed via GBIF.org on 28.04.2023).
8. Atamanchuk A. R., Bisko N. A. Cultural and morphological characteristics of wood-inhabiting Xylaria species from Ukraine. Plant & Fungal Research 2022; 5(2):11–19.
9. Liu X., Dong M., Chen X., et al. Antioxidant activity and phenolics of an endophytic Xylaria sp. from Ginkgo biloba. Food Chemistry 2007; 105(2):548–554.
10. Rebbapragada D. P., Kalyanaraman R. Evaluation and optimization of antioxidant potentiality of Xylaria feejeensis HMJAU22039. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 2016; 9(2):269–273.

THE USE OF CRISPR/CAS SYSTEMS AS AN ALTERNATIVE TOOL TO OVERCOME ANTIBIOTIC RESISTANCE

Baiko O.[1], Klochko V.[1,2]
[1]Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, olyabayko@gmail.com
[2]Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine

Introductions. Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)-Cas (CRISPR-associated proteins) are specific repeating DNA sequences found in the genomes of prokaryotes, such as bacteria and archaea. It is a revolutionary gene-editing technology that enables scientists to precisely modify DNA in living cells. Therefore, this tool has the potential to revolutionize many fields, including medicine, agriculture, and biotechnology, as it can lead to the development of new treatments for genetic disorders, the improvement of crop yields and resistance to pests and diseases, advancements in the production of bioactive compounds, etc.

One of the leading public health threads of the 21st century is the emergence of antibiotic-resistant strains. Antibiotic resistance (AMR) occurs when bacteria evolve mechanisms to resist the effects of antibiotics, making these drugs ineffective in treating bacterial infections. The search for new antibiotics is a complex and challenging process that is hindered by inherent difficulties. Furthermore, the rate of emergence of antibiotic resistance far exceeds the rate of development of new antibiotics, which is not sufficient to combat the increase of this problem. It is thus necessary to develop new alternative approaches, including methods of genetic manipulation, to limit antibiotic resistance in pathogens.

Therefore, the aim of this work is to analyze the potentiality of using CRISPR/Cas systems to overcome the problem of antibiotic resistance.

Materials and methods. Bikard et al. [1] assembled the pDB91 phagemid by amplifying the rinA-terS-terL region and packaging site of staphylococcal ΦNM1 followed by cloning into pC194 in *S. aureus* strain RN4220 competent cells. The plasmid pDB121, which carries the *S. pyogenes* tracrRNA, Cas9 and a minimal array containing two repeats separated by a sequence containing BsaI restriction sites used to clone crRNA guide sequences using annealed oligonucleotides, was cloned using the Gibson assembly method. Obtained pDB121 plasmids with different targeting sequences were then cloned into pDB91 [1].

Phage stocks were produced by growing RN4220 cells with a phagemid containing the desired CRISPR spacer in TSB+Cm+$CaCl_2$, followed by incubation of cultures with a concentrated ΦNM1 phage stock, centrifugation of the cell culture, and filtration of the supernatant. Recipient cells were grown in TSB with the following addition of $CaCl_2$ in exponential phase, mixed with the phage stock dilution, and plated on TSA after 1h of incubation. Survival rates were measured as the ratio of CFUs obtained with treatment over CFUs obtained without treatment. The phagemids were used to treat isolates of *S. aureus* strain USA300, which carries the methicillin resistance gene mecA and the conferring tetracycline resistance pUSA01-2 plasmid, in a mixed culture with RN cells. The following analysis included the growth curves, fluorescence measurements and flow cytometry [1].

Kim et al. [2] constructed a plasmid, pRESAFR$_{ESBL}$, that produced Cas9 protein under the BBa_J23102 promoter, tracrRNA, and crRNAs targeting TEM- and SHV-type ESBLs, by cloning crRNAs into pCAS9. *E. coli* strain that is resistant to both ampicillin (Amp) and ceftazidime (Cef) was manufactured by transformation of *E. coli* BW25113 with the plasmid pESBL isolated from *K. pneumoniae* K01-Bact-08-03094 through conjugation. The obtained ESBL strain was then transformed with either pRESAFR$_{ESBL}$ or pCas9 that expressed only Cas9, serially diluted and plated onto LB agar plates containing chloramphenicol (Clm) or Clm and Amp in combination. The re-sensitization ratio was calculated from colony-forming units after overnight incubation at 37°C [2].

Tagliaferri et al. [3] had used the Type II CRISPR-Cas9 system to control AMR by insertion of bla$_{TEM-1}$ targeting sgRNA into the plasmid pSB1C3 containing the *Streptococcus pyogenes* CRISPR-Cas9 locus. Tests were carried out on the non-AMR *E. coli BL21* model strain, followed by three other clinical *Enterobacteriaceae* samples—*E. coli* 189A, *Enterobacter hormaechei* 4962 and *Klebsiella variicola* 68AI isolated from bacteremia patients. *E. coli* BL21 was transformed with both pSB1C3 and pSB1A2 containing the bla$_{TEM-1}$ gene for Amp resistance by the heat-shock method, and the clinical isolates received the CRISPR-Cas9 plasmid pSB1C3 by electroporation. Bacteria were then cultivated in LB+Clm medium at 37°C with and without Amp with the following growth kinetics recording in every hour for 24 h [3].

Results and discussion. After treatment of exponentially growing USA300 and RN cells mixed 1:1 with pDB121::mecA and non-targeting pDB121 cells were plated on a non-selective, oxacillin-containing or chloramphenicol-containing media to measure the proportion of cells receiving the phagemid treatment or the proportion of USA300Φ cells in the population relatively (Fig. 1. a). As a result, treatment with phagemid::mecA successfully reduced the proportion of USA300 from 50% to 0.4%, and so proved to be selectively killing methicillin-resistant strains within a mixed population [1, 4].

As for tetracycline-resistant plasmids, in all cases when pUSA01, pUSA02 or both were targeted, cell death was not observed, but more than 99.99 % of the cells became sensitive to tetracycline, the majority of them due to the loss of pUSA02 (Fig. 1. b) [1].

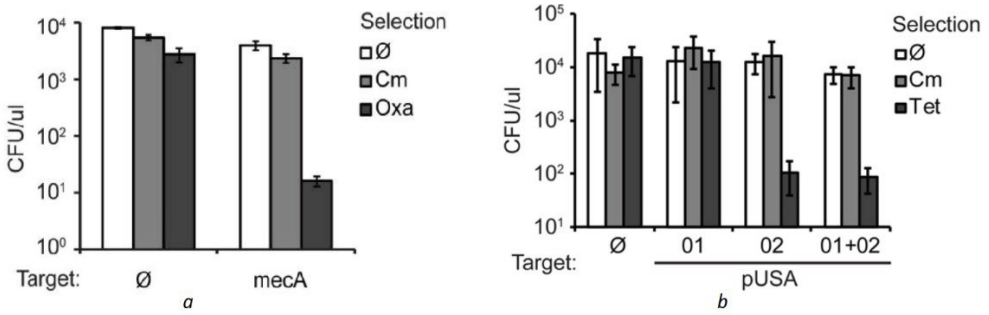
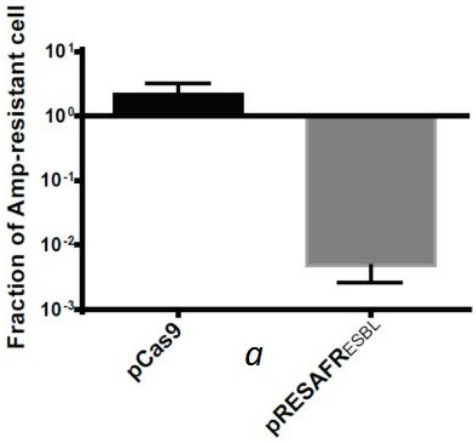


Fig. 1. Targeting antibiotic resistance genes and plasmids in an MRSA strain: a – the numbers of colony-forming units detected on different media after treatment with pDB121::mecA and pDB121⌀, b - the numbers of colony-forming units after treatment of USA300Φ with pDB121 lysates targeting plasmids pUSA01-2 individually or in combination [1].

The transformation of pRESAFR$_{ESBL}$ into the ESBL *E. coli* strain containing pESBL led to the death of more than 99% of cells upon treatment with Amp (Fig. 2. a), suggesting that the presence of targeting plasmid caused the ampicillin sensitivity in previously resistant cells. In addition, although resistance to Cef is mediated by CTX-M β-lactamases with different target sequences, tests against several antibiotics showed the obtained sensitivity to Cef in cells with pRESAFR$_{ESBL}$ (Fig. 2. b) indicating that constructed plasmid affected other resistance genes. Multiple ESBL genes are frequently carried together in a single plasmid and, therefore, the double-stranded break in the target sequence of TEM and SHV induced clearance of the whole plasmid, sensitizing the ESBL strain to different antibiotics [2].



Antibiotics	Diameter of inhibition zone (mm)			
	E. coli BW25113	*E. coli* BW25113 (pESBL)		
		None	pCas9	pRESAFR$_{ESBL}$
Chloramphenicol (34 μg)	17	18	-	-
Ceftazidime (1 μg)	18	-	-	20.0±0.63
Ampicillin (10 μg)	15	-	-	16.6±1.02

b

Fig 2. Re-sensitization to antibiotics of *E. coli* carrying ESBL plasmids by the ReSAFR system: a – the numbers of the antibiotic-resistant cell fraction for cells with pCas9 and pRESAFR$_{ESBL}$ obtained by comparing the colony-forming units (CFU) after treatment with ampicillin and the CFU before treatment, b - diameters of the inhibition zones after treatment with several antibiotics [2].

Transformation of pSB1C3 containing CRISPR-Cas9 system successfully reversed AMR in the model TEM+/CRISPR+ strain (Fig. 3. a, b.) by reduction of pSB1A2 in 99.995% of cells [3].

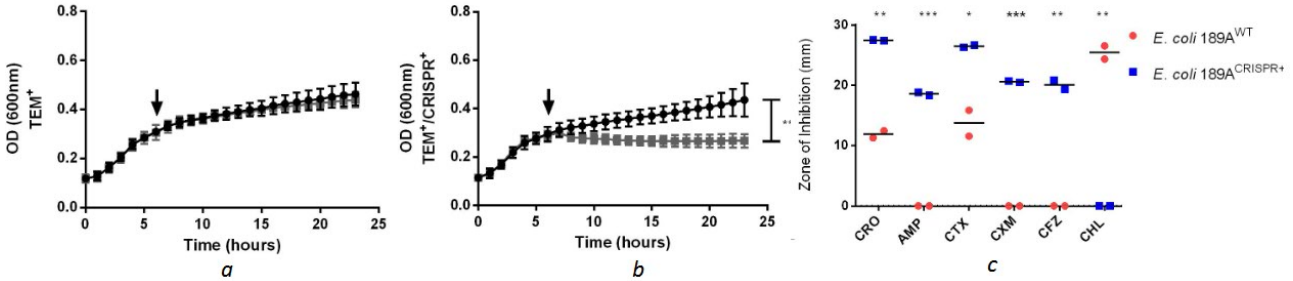


Fig. 3. Effect of the CRISPR-Cas9-based interference with the blaTEM–1 gene in different strains: a – growth of *E. coli* BL21 containing the blaTEM–1 resistance gene in the presence (gray curve) or absence (black curve) of ampicillin, b – growth of *E. coli* BL21 containing blaTEM–1 and CRISPR-Cas9, c – measurement of inhibition zones showing re-sensitization to several antibiotics in *E. coli* 189A [3].

In the case of clinical isolate *E. coli* 189A, re-sensitization to Amp, cefazolin (Cfz), cefuroxime (Cxm), ceftriaxone (Cro), and cefotaxime (Ctx) (Fig. 3. c) was observed as a consequence of complete plasmid clearance. On the contrary, *E. hormaechei* 4962 and *K. variicola* 68AI showed lower efficiency of re-sensitization with some plasmid retention, due to damages in CRISPR-Cas9 locus and the presence of other, not targeted, resistance genes [3, 5].

Conclusions. Based on the results of the conducted analysis, CRISPR/Cas systems were determined to be a tool with immense potential for treating antibiotic resistance. The results of several studies have shown that these systems can selectively recognize and re-sensitize antibiotic-resistant bacteria by targeting the resistance genes and editing their sequence, followed by plasmid clearance, as well as destroy them through chromosomal damage. Additionally, CRISPR/Cas systems can be used to eliminate bacterial infections in a less harmful way to healthy cells than traditional antibiotics, as they can be targeted to specific bacteria, leaving the healthy microbiome intact. Therefore, this alternative tool can be utilized to bring some respite to the problem of antibiotic resistance.

References:

1. Bikard D, Euler CW, Jiang W, et al. Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. Nat Biotechnol. 2014; 32(11):46-50. https://doi.org/10.1038/nbt.3043.

2. Kim JS, Cho DH, Park M, et al. CRISPR/Cas9-mediated re-sensitization of antibiotic-resistant *Escherichia coli* harboring extended-spectrum β-lactamases. J Microbiol Biotechnol. 2016; 26:394–401. https://doi.org/10.4014/jmb.1508.08080.

3. Tagliaferri TL, Guimara˜es NR, Pereira MPM, et al. Exploring the potential of CRISPR-Cas9 under challenging conditions: facing high-copy plasmids and counteracting beta-lactam resistance in clinical strains of *Enterobacteriaceae*. Front Microbiol. 2020; 11:578. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00578.

4. Gholizadeh P, Köse Ş, Dao S, Ganbarov K, Tanomand A, Dal T, Aghazadeh M, Ghotaslou R, Ahangarzadeh Rezaee M, Yousefi B, Samadi Kafil H. How CRISPR-Cas System Could Be Used to Combat Antimicrobial Resistance. Infect Drug Resist. 2020; 13:1111-1121. doi: 10.2147/IDR.S247271.

5. Roy S, Naha S, Rao A, Basu S. CRISPR-Cas system, antibiotic resistance and virulence in bacteria: Through a common lens. Prog Mol Biol Transl Sci. 2021; 178:123-174. doi: 10.1016/bs.pmbts.2020.12.005.

ANTIBIOTIC AND PHAGE THERAPY TO CONTROL BIOFILM FORMATION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS

Brodnikova E. R.[1], Kalyuzhnyi Y. A.[1], Klochko V. V.[1,2]
[1]Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, prombtkpi@gmail.com
[2]Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine

Introductions. The ability of staphylococci to form biofilms makes the treatment of many diseases more complicated and reduces the effectiveness of hemodialysis and hemotransfusion. These microorganisms can cover wounds and medical instruments (implants and catheters) and promote the proliferation of hospital-acquired infections. The main problem in the treatment of *Staphylococcus aureus* biofilm formation is its high antibiotic resistance. Existing methods of biofilm control are generally ineffective that leads to the accumulation of resistant microorganisms.

Traditional antibiotic therapy is focused on killing viable cells, but removal of matrix components and prevention of initial attachment stages are also potentially important mechanisms in the treatment against biofilms [1].

It is found that biofilm cells are 10-1000 times more resistant to antibiotics and antimicrobial peptides [1]. The low penetration of antibacterial drugs into biofilms associated with their highly complex structure, as well as internal antibacterial resistance, are main factors in the resistance of biofilms to antibacterial therapy.

The use of alternative therapies is very promising, one of which is the use of bacteriophages, a specific type of virus that can infect bacterial cells. Bacteriophages are characterized by their high specificity and are unable to multiply in mammalian cells due to receptor restrictions too, so they can be used in medical practice [2].

Staphylococcal bacteriophages are characterized by a high level of effectiveness, but their practical use in the medical sphere of Ukraine is limited.

The aim of our work was to analyze a biofilm formation control scheme using bacteriophages, to evaluate the effectiveness and safety of the proposed method.

Materials and methods. *S. aureus* strains were cultured at t = 35±2 °C on Colombian agar with 5 % sheep blood for 24 h. Inoculum with a bacterial concentration of $1{,}5\times10^8$ CFU/mL was prepared with sterile 0,85 % saline. Seeding was performed in horizontal lines on Mueller-Hinton agar, after which 20 μL of phage (PYO, STAPHYLOCOCCAL, INTESTI, and PHAGESTI) was added to each line. After 24 h of incubation at t = 35±2 °C, the lysis zone was assessed using the dot test [3].

Results and discussion. *Staphylococcus aureus* is a Gram-positive aerobic facultative pathogenic bacterium that can often lead to skin infections. However, while most staphylococcal infections are not serious, *S. aureus* can also cause serious infections such as blood poisoning, pneumonia, endocarditis, and osteomyelitis [4].

S. aureus has a specific virulence factor, coagulase, which promotes biofilm formation. The coagulase binds to host prothrombin and forms active staphylotrombin complexes that transform soluble monomeric fibrinogen into insoluble, self-polymerizing fibrin and activate the coagulation cascade. *S. aureus* uses the fibrin and fibrinogen formed by coagulase to form the biofilm framework. Microbial biofilms demonstrate increased resistance to disinfectants and antibiotics, and often only a

combination of chemical and physical methods can reduce the CFU and remove the biofilm from surfaces. Biofilms formed by resistant or intermediate categories of *S. aureus* reduce the penetration of oxacillin, vancomycin, and cefotaxime [5].

The high-level antibiotic resistance of biofilms makes it possible to use alternative therapies, such as phage treatment. The antibacterial effect of bacteriophages is caused by the penetration of the phage genome into the bacterial cell, followed by its reproduction and lysis of the infected cell. This leads to the death of pathogenic bacteria and determines the important role of bacteriophages in the control of infections caused by the formation of biofilms [6].

Studies of bacteriophage preparations *in vivo* and *in vitro* on invertebrates (in particular, *Galleria mellonella* and *Drosophila melanogaster*) have shown that the sensitivity of Staphylococcus strains ranges from 17,9 % to 50,6 %, depending on the specific preparation (Table 1).

Table 1. Sensitivity of Staphylococcus isolates to bacteriophages [3]

Sensitivity to bacteriophage	*S. aureus,* n = 66 (%, absolute values)	CoNS, n = 17 (%, absolute values)
PYO	54,5 % (36/66)	23,5 % (4/17)
INTESTI	56,1 % (37/66)	29,4 % (5/17)
PHAGESTI	21,2 % (14/66)	11,8 % (2/17)
STAPHYLOCOCCAL	17,9 % (10/56)	7,7 % (1/13)

Notes: CoNS – coagulase-negative staphylococci.

The inclusion of bacteriophage cocktails in a pure two-day culture of *S. aureus* led to a significant inhibition of biofilm formation. So, the optical density of biofilms decreased from 0,196±0,031 in pure culture to 0,111±0,018 when INTESTI phage cocktail was added at a dilution of 1/2 (Fig. 1).

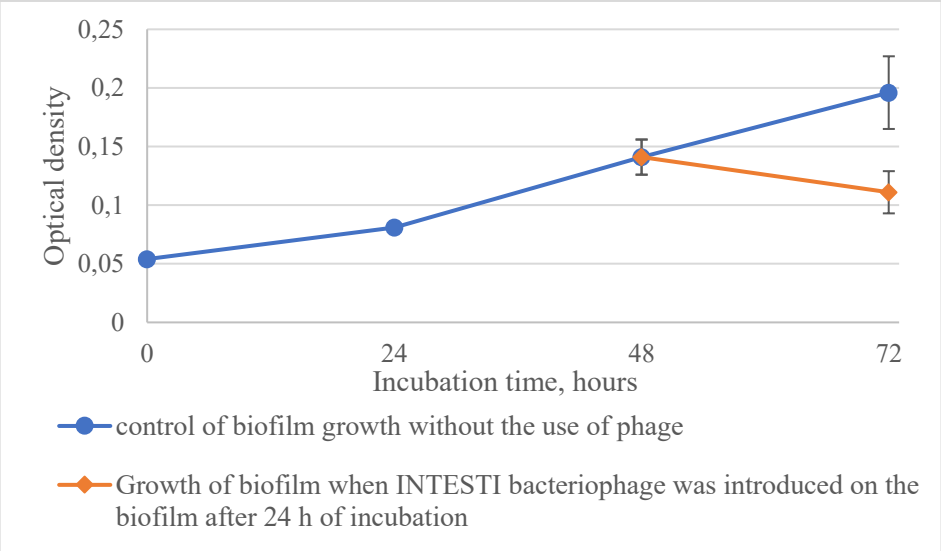


Fig. 1. Changes in optical density under the influence of INTESTI bacteriophage when applied to a 2-day biofilm after 24 h of incubation [6]

The results of the study demonstrate the sensitivity of antibiotic-resistant *S. aureus* strains to INTESTI and PYO (56,1 % and 54,5 % of isolates, respectively), and a 3,4 % decrease in the optical density of biofilms indicates the high efficiency of phage therapy. The obtained data are explained by the destruction of exopolysaccharide components of the biofilm matrix under the influence of phage endolysins, which facilitates the infiltration of the viral genome into bacterial cells.

A combination of antibiotic and phage therapy is a perspective method in the control of biofilm formation. *In vitro* studies have shown that incubation of *S. aureus* culture for 24 h with phage SAP 26 leads to the death of 26 % of biofilm cells, with azithromycin – 25 % of cells, while the combined use of these drugs led to the death of 60 % of bacterial cells [7]. This synergistic phenomenon is due to both a decrease in the minimum inhibitory concentration and the destruction of the biofilm matrix, which also reduces the antibiotic resistance of *S. aureus* strains. Despite the high efficiency of this method of therapy, further clinical studies are necessary to demonstrate the safety of this form of therapy.

Conclusions. The analysis results revealed that phage therapy is an effective method in the control of *Staphylococcus aureus* biofilm formation. The described phage cocktails PYO and INTESTI are clinically proven, characterized by high antimicrobial activity (inhibition of bacterial growth by ≈ 40 %) and therapeutic effect, which allows the use of these drugs in medical practice and for the prevention of biofilm formation on medical equipment. The most promising method is the combined use of antibiotics and phages, which increases the effectiveness of therapy from ≈ 25% to 60 %, but the absence of clinical studies makes it less possible to implement such treatment on a large scale.

References:

1. Schilcher, Katrin, and Alexander R Horswill. “Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies.” Microbiology and molecular biology reviews: MMBR vol. 84,3 e00026-19. 12 Aug. 2020, doi:10.1128/MMBR.00026-19

2. Nasser, A., Azizian, R., Tabasi, M., Khezerloo, J. K., Heravi, F. S., Kalani, M. T., Sadeghifard, N., Amini, R., Pakzad, I., Radmanesh, A., & Jalilian, F. A. Specification of Bacteriophage Isolated Against Clinical Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. Osong public health and research perspectives. 2019; 10(1), 20–24. https://doi.org/10.24171/j.phrp.2019.10.1.05

3. Neguţ AC, Chifiriuc MC, Săndulescu O, et al. Bacteriophage-driven inhibition of biofilm formation in Staphylococcus strains from patients attending a Romanian reference center for infectious diseases. FEMS Microbiol Lett. 2016; 363(18):fnw193. doi:10.1093/femsle/fnw193.

4. Bush, L. M., & Vazquez-Pertejo, M. T.. Staphylococcal Infections. MSD Manual Professional Edition. 2023. https://www.msdmanuals.com/professional/infectious-diseases/gram-positive-cocci/staphylococcal-infections

5. Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., Tateda, K. Morphological and Biological Characteristics of Staphylococcus aureus Biofilm Formed in the Presence of Plasma. Microbial Drug Resistance. 2019. doi:10.1089/mdr.2019.0068

6. Вплив препаратів бактеріофагів на процес біоплівкоутворення штамів *Staphylococcus aureus* / Є. С. Воробєй, О. С. Воронкова, А. І. Вінніков. // Наукові доповіді Національного ун. біоресурсів і природокористування України. – 2017. – № 3. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2017_3_9.

7. Łusiak-Szelachowska, M., Międzybrodzki, R., Drulis-Kawa, Z. et al. Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far. J Biomed Sci 29, 23. 2022. https://doi.org/10.1186/s12929-022-00806-1

SELECTING THE OPTIMAL ENVIRONMENT FOR CULTIVATION OF LACTOBACILLUS RHAMNOSUS GG BIOMASS

Hryshchenko M. I., Starovoitova S. O.
National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

Introduction. Today, 65% of the healthy food market is occupied by products and supplements aimed at normalizing the digestive system, particularly probiotics. Probiotics are also used to reduce the negative consequences of antibiotic therapy, which is currently in high demand. In Ukraine, for example, 2.6% of the population received antibiotic therapy in 2020. Lactobacillus species are often used as probiotic microorganisms, but due to their demanding nutritional requirements, cultivating these bacteria can be quite expensive [1].

The aim of our work is to select the most optimal environment for the growth of lactobacilli, particularly *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG).

Materials and methods. Literary sources devoted to the conditions and environments for cultivating LGG that provide stable probiotic properties have been analyzed, and their cost and economic feasibility have been calculated.

Results and discussion. The selection of a nutrient medium is one of the main factors that determine the possibility of industrial cultivation of microorganisms. Currently, the optimal medium for cultivating lactobacilli is the MRS medium, but using this medium during the production of probiotics can be quite expensive. Therefore, there is an urgent need to reduce the cost of existing probiotic cultivation technologies by introducing new physiologically efficient and relatively inexpensive nutrient media into production practice.

L. rhamnosus GG is a type of gram-positive bacteria that falls under the Lactobacillus genus and Lactobacillaceae family. It is naturally found in humans and has notable antagonistic activity against pathogenic and opportunistic microorganisms. Moreover, it exhibits resistance to the acidic and enzymatic environments of the gastrointestinal tract, possesses strong adhesion properties, stable genetic traits, and is considered a GRAS organism. Studies have shown that L. r*hamnosus* GG can alleviate symptoms of various gastrointestinal disorders such as diarrhea, irritable bowel syndrome, and inflammatory bowel disease. It can also improve the symptoms of respiratory infections and allergies. Moreover, it has been suggested that this strain can potentially prevent the development of certain types of cancers.The primary criterion for selecting this microbe was its scientifically proven ability to reduce the duration of rotavirus infection by stimulating the synthesis of immunoglobulin A. Additionally, it has no antigenic properties towards the human body [2, 3].

The comparative characteristics of the media for *L. rhamnosus* GG cultivation are presented in Table 1. According to the analyzed sources, the shortest cultivation time is observed in the medium from article [4], while the highest cell concentration is achieved in the medium mentioned in the article [5]. But in order to finally choose the most optimal environment, you need to calculate its cost.in Table 2.

Based on the information provided, it appears that the optimal medium for producing the target product is medium №1. This is because the conditional cost of biomass produced on this medium is the lowest at 4.34 UAH/g, and the biomass

accumulation rate is the fastest at 0.5 g/hour. Additionally, medium №1 allows for improved cell viability after lyophilization, which is a process that significantly increases the shelf life of bacterial biomass and ensures the stability of its characteristics.

Table 1. Features of *Lactobacillus rhamnosus* GG cultivation on a growth substrate mixture

Nutrient medium composition:		Cultivation duration, h	Cell concentration (CFU/ml)	Features of the biosynthesis process	Total cost of 1 liter of medium, UAH*
Components	concentration, g/L				
1	2	3	4	5	6
Glucose K_2HPO_4 Yeast extract Peptone KH_2PO_4 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ Tween 80,	20 11,3 10 10 4,6 0,2 0,05 0,1	12	10^9	Periodic cultivation at 37°C (based on inoculum cultivation data) [3].	26,06
Sweet potato Proteose pepton Beef extract Yeast extract CH3COONa Tween 80 Na2HPO4 K2HPO4 NH4C6H5O7 MgSO4*7H2O MnSO4*5H2O L-Cysteine	450 8 8 8 5 1 мл 2 2 2 0,1 0,05 1	24	$5,6 \times 10^{10}$	At a temperature of 37°C, with an initial pH range of 6.37-6.54. [4].	127,457

Note. * - Prices are given as of February 2022.

Table 2. Conditional cost of 1 g of *Lactobacillus rhamnosus* GG cells synthesized on a mixture of growth substrates

The nutrient medium	Biomass concentration, g/L	Cultivation duration, h	Amount of biomass formed per hour, g/hour	Cost of 1 L of medium, UAH/L	Conditional cost of 1 g of target product, UAH/g
1	2	3	4	5	6
1 [4]	6	12	0,5	26,06	4,34
2 [5]	6	24	0,25	127,457	21,243

It is important to note that while the cost of biomass production is a significantfactor in determining the optimal medium, other factors such as product quality and stability should also be taken into account. The fact that medium №1 allows for improved cell viability after lyophilization is an important consideration in ensuring the quality and stability of the final product [4].

The removal of water during lyophilization inhibits microbial growth, thus improving the shelf-life of the product. Lyophilized probiotic biomass can be easily rehydrated and incorporated into a variety of products, such as dietary supplements, functional foods, and pharmaceuticals. Also, reduced weight and volume of lyophilized probiotic biomass make it easier and more cost-effective to transport and low-temperature process of lyophilization helps to preserve the viability and functionality of probiotic cells [4, 6].

Conclusions. Having analyzed the data obtained, we will stop our choice on medium №1 Firstly, it is more cost-effective than other mediums, which is an important factor in commercial production. Secondly, the use of this medium allows for an increase in the survival rate of lactobacilli during the lyophilization process up to 80%, which is crucial for maintaining the potency of the final product.Specifically, probiotics in the form of lyophilizate are included in the composition of many drugs, dietary supplements, or food products [4].

References:

1. Paraskevakos G. Global overview for probiotics: Trends, markets, and harmonization. *Regulatory Focus*. 2022. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.raps.org/news-and-articles/news-articles/2022/9/global-overview-for-probiotics-trends-markets-and#citation

2. Zhou B., Jin G., Pang X., Mo Q., & etc. *Lactobacillus rhamnosus* GG colonization in early life regulates gut-brain axis and relieves anxiety-like behavior in adulthood. Pharmacological Research. 2022 177, 106090. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106090

3. Boggio Marzet C, Burgos F, Del Compare M, Gerold I, Tabacco O, Vinderola G. Approach to probiotics in pediatrics: the role of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Arch Argent Pediatr*. 2022, 120(1): 1-7. doi:10.5546/aap.2022.eng.e1

4. Siaterlis A., Deepika G., Charalampopoulos D. Effect of culture medium and cryoprotectants on the growth and survival of probiotic lactobacilli during freeze drying. *J. The Society for Applied Microbiology*. 2009, 48(3): 295-301. doi. 10.1111/j.1472-765X.2008.02529.x

5. Saeed A. Hayek, Aboghasem Shahbazi, Saddam S. Awaisheh, Nagendra P. Shah, Salam A. Ibrahim. Sweet Potatoes as a Basic Component in Developing a Medium for the Cultivation of Lactobacilli. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2013, 77(11): 2248–2254. doi. 10.1271/bbb.130508

6. L. Carvalho, L. F. Mendes, R. B. Silva. Production of dry *Lactobacillus rhamnosus* GG preparations by spray drying and lyophilization in aqueous two-phase systems," *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2010, 85(7): 948-954. doi: 10.1002/jctb.2381.

THE USE OF SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES SYNTHESIZED BY *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMV AC-5017 ON INDUSTRIAL WASTE FOR THE DESTRUCTION OF BACTERIAL AND YEAST BIOFILMS

Kliuchka I.V.
National University of Food Technologies, klyu4ka.igor@ukr.net

Introduction. There is an increasing interest to microbial surfactants vs synthetic analogues due to advantages (biodegradability, lack of toxicity, stable physical and chemical properties in a wide range of temperatures and pH) [1] and unique biological properties of first [2, 3]. Thus, the possibility of using surfactants of microbial origin in the oil and mining, chemical, food industries, agriculture, and environmental technologies has already been established.

Although at present the effectiveness of biotechnology methods for obtaining surfactants is low due to the high cost of the products of microbial synthesis. A possible solution is to use industrial waste (that are available in large quantities) as substrates [4].

In our previous studies [5, 6] a possibility of synthesis of surfactants by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 on waste from biodiesel production and refried sunflower oil was found. However, to date, an anti-adhesive activity of surfactants synthesized on these toxic wastes has not been studied.

Therefore**,** the **objective of this work** is to study how surfactants, synthesized by *R. erythropolis* IMV Ac-5017 on waste from biodiesel production and refried sunflower oil, influence on biofilms destruction.

Material and methods. *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 was cultivation in a liquid mineral medium. The following compounds were used as a carbon source (2 % volume fraction): refined glycerol; waste from biodiesel production (Komsomol Biofuel Plant, Poltava region, Ukraine), refined sunflower oil (TM «Oleyna», Ukraine), waste mixed sunflower oil after frying meat, potatoes, onions, cheese (from RocketPub fast food restaurants, Kyiv, Ukraine).The surfactants were extracted from the supernatant of cultural liquid by a Folch mixture. The degree of biofilms destruction were determined by spectrophotometric method.

Results. The ability of surfactants to destroy the biofilms, depended on the nature of the growth substrate, the concentration of surfactants and the type of test culture.

The degree of destruction of bacterial (*Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* BT-2, *Pseudomonas* sp. MI-2) biofilms by surfactants synthesized on both refined glycerol and waste from biodiesel production was almost the same: 48-72% and 44-73% respectively. While surfactants synthesized on waste oil destroyed such bacterial biofilms more effective (the degree of destruction was 63-73%) than those obtained on refined oil (42-60%). It should be noted that the destruction of bacterial biofilms by 42−76 % was achieved at low concentrations of surfactants (8−15 μg/ml) synthesized on all studied substrates.

Surfactants were equally effective in destroying biofilms (72–80 %) of *Candida albicans* D-6, *Candida utilis* BVS-65, *Candida tropicalis* PE-2 and not depended on

the nature of carbon source in the culture medium of *R. erythropolis* IMV Ac-5017. The concentrations of surfactants were 2-4 times higher (30 μg/ml) than bacterial biofilms. It should be noted that he destruction of yeast biofilms of the genus *Candida* is an urgent problem today, because most modern biocides, including some surfactants, are not effective enough. For example, surfactants synthesized by *Lactobacillus jensenii* P6A and *Lactobacillus gasseri* P65 at a concentration of 180 μg/ml destroyed yeast biofilms only by 25–35 %

To date, in the literature, there is no information about the destruction of biofilms under the action of surfactants synthesized on industrial waste, although there are a large number of works on the ability of microbial surface-active rhamnolipids and lipopeptides to destroy biofilms [7, 8].

Conclusions

It was found that surfactants synthesized by *R. erythropolis* IMV Ac-5017 on toxic industrial waste are characterized by high able to destroy bacterial and yeast biofilms. This set of biological properties makes the surfactant strain IMV Ac-5017 promising for practical use. Also, bioconversion of waste from biodiesel production and waste oil into microbial surfactants will help protect the environment from uncontrolled emissions of toxic waste.

References:

1. De Almeida D. G., Soares Da Silva R. C., Luna J. M., et al. Biosurfactants: promising molecules for petroleum biotechnology advances. Frontiers in Microbiology. 2016; 7:1718

2. Naughton P. J., Marchant R., Naughton V., et al. Microbial biosurfactants: current trends and applications in agricultural and biomedical industries. Journal of Applied Microbiology. 2019;127(1), 12-28.

3. Vecino X., Rodríguez-López L., Ferreira D., et al. Bioactivity of glycolipopeptide cell-bound biosurfactants against skin pathogens. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 109, 971-979.

4. Singh P., Patil Y., Rale V. Biosurfactant production: emerging trends and promising strategies. Journal of Applied Microbiology, 2019, 126(1), 2-13.

5. Pirog T. P., Sofilkanych A. P., Shulyakova M., Shevchuk T. A. Biosurfactant synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 on byproduct of biodiesel production. Food and Bioproducts Processing. 2015, 93, 11-18.

6. Pirog T., Sofilkanych A., Konon A., et al. Intensification of surfactants' synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* K-8 on fried oil and glycerol containing mediu. Food and Bioproducts Processing. 2013; 91(2), pp. 149-157.

7. Diaz De Rienzo A., Stevenson S. Marchant R., Banat M. Effect of biosurfactants on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* biofilms in a BioFlux channel. Applied Microbiology and Biotechnology. 2016, 100(13), 5773-5579. doi: 10.1007/s00253-016-7310-5.

8. Eckhard L. H., Houri-Haddad Y., Sol A., et al. Sustained release of antibacterial lipopeptides from biodegradable polymers against oral pathogens. PLoS One. 2016; 11(9):e0162537. doi: 10.1371/journal.pone.0162537.

SYNERGISTIC EFFECT ON *CANDIDA* GENUS YEAST OF A MIXTURE OF ANTIFUNGAL DRUGS AND SURFACTANTS, SYNTHESIZED BY *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV B-7241

Kliuchka L.V.
National University of Food Technologies, liya.nikityuk@ukr.net

Introduction. The number of publications devoted to the study of *Candida* genus representatives causative agents of nosocomial infectious diseases is increasing every year [1, 2]. This is due, first of all, to the spread of their resistant forms, arising against the background of prolonged use of broad-spectrum antibiotics, immunosuppressive therapy, and prolonged catheterization of patients [3].

Compared to antibacterial agents, the number of antifungal agents is much smaller, and most clinical isolates of the genus *Candida* (in particular *C. albicans, C. tropicalis* and *C. glabrata*) are resistant to azoles, which are currently the most common to fungal infections treated. One of the approaches to increasing the efficiency of using antifungal compounds is their combination with natural substances that can be microbial surfactants [4, 5].

But under different cultivation conditions, the biological activity of microbial surfactants can change. Previously was shown the possibility to regulate the biological activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants by cultivating the IMV B-7241 strain in a medium with an increased concentration of calcium and magnesium cations - activators of $NADP^+$-dependent glutamate dehydrogenase, and a key enzyme in the biosynthesis of lipopeptides (main antimicrobial agents) and potassium and sodium cations.

These monovalent cations in high concentrations inhibit $NADP^+$-dependent glutamate dehydrogenase, which ultimately leads to a low antimicrobial and antifungal activity of the synthesized surfactants. It was suggested that it is possible to enhance the antifungal activity of surfactants synthesized by IMV B-7241 in the presence of potassium and sodium cations in a mixture with antifungal agents.

The **aim** of this work is to investigate the possibility of a synergistic effect on *Candida* genus yeast of a mixture of *A. calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants with clotrimazole and fluconazole.

Materials and methods. Strain *A. calcoaceticus* IMV B-7241 was grown in a liquid mineral medium (g/l): $(NH_2)_2CO$ – 0,35, NaCl – 1,0, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ – 0,6, KH_2PO_4 – 0,14, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1, yeast autolysate – 0,5 % (v/v), trace elements a solution – 0.1%, (v/v) (base medium). Cultivation of strain IMV B-7241 was also carried out in a basic medium that did not contain NaCl (medium 1), in which the concentration of NaCl was 2.0 g/l (medium 2), in which 1.0 g/l KCl was additionally added (medium 3).

Spent after frying potatoes sunflower oil 2% (v/v) was used of carbon source. The amount of synthesized surfactants (g/l) was determined by weighting method after extraction from a supernatant of culture fluid with a modified Folch mixture. Antimicrobial properties of the surfactants and antifungal drugs were determined by index of the minimum inhibitory concentration (MIC). To assess the synergistic effect of a mixture of surfactants with antifungal drugs, the fractional inhibitory concentration

(FIC) index was used.

Results. It was found that the surfactants synthesized by IMV B-7241 on base medium proved to be effective antifungal agents, the MIC value against *Candida albicans* D-6, *Candida tropicalis* PE-2 and *Candida utilis* BMS-65 was 22.5-45 μg/ml, and were lower than the MIC of surfactants obtained on modified media 1-3. Nevertheless, regardless of *A. calcoaceticus* IMV B-7241 cultivation conditions of and the MIC values, all synthesized surfactants in a mixture with clotrimazole reduced the minimum inhibitory concentrations of this drug against test cultures in 4-32 times.

At the same time, the FIC value did not exceed 0.5, which indicates synergy between compounds. Surfactants synthesized by IMV B-7241 in various cultivation conditions also showed synergistic antifungal activity in a mixture with fluconazole. Thus, in a mixture with surfactants, the MIC values of fluconazole in against *C. albicans* D-6, *C. tropicalis* PE-2, and *C. utilis* BMS-65 were reduced from 35.5 μg/ml to 1.1-9.3 μg/ml. Despite the high FIC values of the mixture of surfactants synthesized on medium 3 with fluconazole (FIC 0.51-0.76), the MIC of the latter were reduced by almost 4 times (from 35.5 to 9.3 μg/ml).

Conclusions. The possibility to using a mixture of *A. calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants and antifungal drugs to reduce the MIC of the latter against *Candida* genus representatives was showed.

References:

1. Lewis J. S., Wiederhold N. P., Wickes B. L, et al. Rapid emergence of echinocandin resistance in *Candida glabrata* resulting in clinical and microbiol ogic failure. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57(9): 4559–61. doi: 10.1128/AAC.01144-13.

2. Perlin D. S., Rautemaa-Richardson R., Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. Lancet Infect Dis. 2017;17(12): 383 –92 doi: 10.1016/S1473-3099(17)30316-X.

3. Arendrup M. C., Patterson T. F. Multidrug-Resistant *Candida*: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. J Infect Dis. 2017; 216(3):445–51.doi: 10.1093/infdis/jix131.

4. Lohse M. B., Gulati M., Johnson A. D., et al. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. Nat Rev Microbiol. 2018; 16(1):19-31. doi: 10.1038/nrmicro.2017.107.

5. Pohl C. H. Recent Advances and opportunities in the study of *Candida albicans* polymicrobial biofilms. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:836379. doi:10.3389/fcimb.2022.836379.

MEDICAL APPLICATIONS OF BACTERIAL VIRUS-BASED AND VIRUS-LIKE NANOPARTICLES

Kozlovska A., Konechna R.
Lviv Polytechnic National University, alisa.kozlovska.bt.2022@lpnu.ua

Introduction. The latest development in nanoscale engineering drastically increased the diversity of methods in medical diagnosis and treatment. The major role in the implementation of recent innovations belongs to viruses. These supermolecular structures possess unique properties, such as high stability, susceptibility to surface engineering of their capsids, innate biocompatibility, and an enormous range of shapes and sizes, which allow them to perform more precise and diverse functions than synthetically programmed nanomaterials.

To differentiate between viruses containing their native nucleic acid, which are referred to as viral nanoparticles (VNPs), viruses devoid of their nucleic acid are considered virus-like particles (VLPs). Both types of structures are already used in different therapeutic procedures or currently remain under clinical research, showing promising results. The mechanisms of their application are determined by the distinctive morphological and physiological characteristics of each nanoparticle class.

The coat proteins of VNPs are determined by their genetic code. Nucleic acid sequences of viruses are relatively small, and therefore many of their genomes have been sequenced and are well characterized. Using genetic engineering, insertion or replacement of residues can be performed to add functional groups [1, 2, 3].

On the contrary, the ability to empty the phage capsid of its genetic material opens up the opportunity to use these hollow phage heads of VLPS as cages for encapsulation of foreign materials [4].

The research aims to define the scope of application of bacterial virus-based and virus-like nanoparticles for medical purposes and determine promising directions for further research.

Materials and methods. Gathering and analysis of the scientific papers relevant to the topic.

Results and discussion. The ability of bacteriophages to enter mammalian cells without further replication makes them suitable as tools for therapeutic interventions. Genetically/chemically-modified viruses that display targeting peptides or synthetic functional molecules have been used as building blocks to design self-assembled nanostructures for drug delivery and the treatment of diseases. In particular, the reported ability of filamentous phages to penetrate to the central nervous system, which is difficult for most of the drug molecules and drug delivery systems due to the relative impermeability of blood-brain barrier, may contribute to making viruses promising drug delivery platforms [5].

Antibiotics are one of the group of drugs that have been loaded in viral-based drug carriers. It has been reported that the conjugation of many copies of the drug molecule onto the phage's major coat proteins increased potency by creating a microenvironment around bacterial cell with a locally high drug concentration. Treatment of gram-positive pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* with the low potency antibiotic chloramphenicol, well-known for its toxicity to blood cells, conjugated to the fd phage

retarded the growth of bacterial cells ~20-fold more efficiently than free chloramphenicol [6].

Viruses perform as carriers of therapeutic cargo for photothermal therapy (PTT), which employs gold nanoparticles as a heat source for inducing cell damage as a result of a light-to-heat conversion process. As gold nanoparticles generate local heating under light illumination, efficient delivery of gold nanoparticles to targeted cells is desirable for selective cell killing. Clusters of gold nanoparticles on T7 phage particles have been fabricated as a PTT delivery platform to treat prostate cancer cells in vitro. The assembly of gold nanoparticles on the capsid surface was achieved via the display of a gold-binding peptide and a prostate cancer cell-binding peptide, in tandem [7].

A potential vaccine against nicotine addiction has been recently developed using the 30-nm icosahedral capsid of bacteriophage Qβ chemically modified to display nicotine in a multivalent fashion. The multivalent and particulate nature of the Qβ-based vaccine boosts the production of anti-nicotine antibodies, thereby reducing blood nicotine levels and limiting transport across the blood-brain barrier [8,9].

A significant body of work has studied the use of VLPs for the development of improved contrast agents. By loading the standard NP-based contrast agents within VLPs, the new NPs gain improved relaxivities which then give higher-resolution images. Additionally, if the VLPs are further modified to target specific cells, the signal-to-noise ratio is increased even further giving clear images of, for example, tumors. To that end, HBVc and CPMV VLPs have been loaded with iron oxide NPs through coordination to the coat proteins or through passive encapsidation [10, 11].

Virus-like particles are used to load nucleic acids as well as drugs. MS2 VLPs are particularly suited to loading RNA. They require a short stem-loop RNA hairpin, which is typically part of their genomic RNA, to assemble into capsids [12]. This sequence has been easily extended to incorporate mRNAs, micro RNAs, and small interfering RNAs [12, 13]. P22 VLPs have been shown to load RNA through electrostatic interactions between the nucleic acid and the coat proteins. Qβ VLPs have also used similar principles to load DNA. These nucleic acid-loaded VLPs have been developed for various uses including vaccines and vaccine adjuvants [14], gene delivery systems [12], micro RNA delivery systems, gene knockdown systems [13], and gene replacement by delivering guide RNA for the CRISPR system [15]. Loading and retaining nucleic acids with VLPs is easier than for small molecules because the nucleic acids are usually much larger and the capsids have evolved to load and carry similar molecules, that is, their viral genomes.

Conclusions. Based on the information provided, it might be feasible that in the next few years, there could be several advances in the conventional drug delivery system, and it may not be a surprise that viral nanoparticles have been utilized as therapeutic carriers for selective drug targeting for inflammatory diseases and cancers, vaccine development, immunotherapy, and molecular imaging. Moreover, as engineering capabilities improve, even greater diversities of virus-based and virus-like particles can be created, expanding the possible applications of these materials.

References:

1. F. C. Geiger, F. J. Eber, S. Eiben, A. Mueller, H. Jeske, J. P. Spatz and C. Wege, *Nanoscale*, 2013, 5, 3808-3816.

2. R. A. Miller, A. D. Presley and M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc*., 2007, 129, 3104-3109. D. S. Peabody, J. Nanobiotechnology, 2003, 1, 5.

3. Q. Wang, T. Lin, J. E. Johnson and M. G. Finn, *Chem. Biol*., 2002, 9, 813-819.

4. Liu, C.; Chung, S.-H.; Jin, Q.; Sutton, A.; Yan, F.; Hoffmann, A.; Kay, B.K.; Bader, S.D.; Makowski, L.; Chen, L. Magnetic viruses via nano-capsid templates. *J. Magn. Magn. Mater*. 2006, 302, 47–51.

5. Frenkel, D.; Solomon, B. Filamentous phage as vector-mediated antibody delivery to the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 5675–5679.

6. Yacoby, I.; Shamis, M.; Bar, H.; Shabat, D.; Benhar, I. Targeting Antibacterial Agents by Using Drug-Carrying Filamentous Bacteriophages. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2006, 50, 2087–2097.

7. Oh, M.H.; Yu, J.H.; Kim, I.; Nam, Y.S. Genetically Programmed Clusters of Gold Nanoparticles for Cancer Cell-Targeted Photothermal Therapy. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2015, 7, 22578–22586.

8. Maurer P, Jennings GT, Willers J, Rohner F, Lindman Y, et al. A therapeutic vaccine for nicotine dependence: preclinical efficacy, and phase I safety and immunogenicity. Eur J Immunol. 2005; 35:2031–40.

9. Cornuz J, Zwahlen S, Jungi WF, Osterwalder J, Klingler K, et al. A vaccine against nicotine for smoking cessation: a randomized controlled trial. PLOS ONE. 2008; 3:e2547.

10. Shen L, Zhou J, Wang Y, et al. Efficient encapsulation of Fe3O4 nanoparticles into genetically engineered hepatitis B core virus-like particles through a specific interaction for potential bioapplications. *Small*. 2015;11(9-10):1190–1196.

11. Aljabali AAA, Sainsbury F, Lomonossoff GP, Evans DJ. Cowpea mosaic virus unmodified empty viruslike particles loaded with metal and metal oxide. *Small.* 2010;6(7):818–821.

12. Prel A, Caval V, Gayon R, et al. Highly efficient in vitro and in vivo delivery of functional RNAs using new versatile MS2-chimeric retrovirus-like particles. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2015;2:1503.

13. Ashley CE, Carnes EC, Phillips GK, et al. Cell-specific delivery of diverse cargos by bacteriophage MS2 virus-like particles. *ACS Nano*. 2011;5(7):5729–5745.

14. Storni T, Ruedl C, Schwarz K, Schwendener RA, Renner WA, Bachmann MF. Nonmethylated CG motifs packaged into virus-like particles induce protective cytotoxic T-cell responses in the absence of systemic side effects. *J Immunol*. 2004;172(3):1777–1785.

15. Qazi S, Miettinen HM, Wilkinson RA, McCoy K, Douglas T, Wiedenheft B. Programmed self-assembly of an active P22-Cas9 nanocarrier system. *Mol Pharm*. 2016;13(3):1191–1196.

ISOLATION AND CHARACTERISATION OF THE MICROBIOME OF SOURDOUGHS BASED ON DIFFERENT FLOUR TYPES

Maliarenko Y. V.[1,2], Lipova I. I.[1], Garmasheva I. L.[1]
[1] D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine,
[2] ESC "Biology and Medicine Institute" Taras Shevchenko National University of Kyiv, yana_maliarenko@ukr.net

Introduction. Since ancient times, sourdough has been widely used in the baking industry. The use of sourdough made it possible to obtain bread with a better taste and texture. The microbiome of the flour plays a significant role in the final result. The microbiome of flour comprises LAB and yeast, which mainly have a positive effect on the properties of final products and filamentous fungi of the genera *Alternaria, Cladosporium, Fusarium, Helmintosporium, Aspergillus, Penicillium, Eurotium* and *Mucor,* which contribute to the spoilage of the product, which becomes dangerous for the health of consumers [1,2]. The study of the properties of the natural microbiota of flour will make it possible to determine the conditions for the creation of sourdoughs some types, which will provide better organoleptic properties of final products [1]. Flour is also a complex multicomponent substrate from which potentially industrially valuable LAB strains can be isolated, for example, producers of exopolysaccharides. In the food industry, exopolysaccharides are used as thickeners, and in the manufacture of bread products they determine the softness of the products. When consumed, exopolysaccharides have a positive effect on the health of the consumer due to prebiotic, immunomodulatory, antioxidant, cholesterol-lowering, antimicrobial and antitumor properties [1,3]. In addition to exopolysaccharides, LAB are capable of synthesizing acetoin - the compound valuable for the food industry, which gives products the aroma of butter. LAB strains capable of synthesizing acetoin are more desirable for creating starter cultures. This work is devoted to the characterisation of the composition of the microbiota of starters and the further phenotypic characteristics of the isolated LAB [1].

The aim of the work is to investigate the diversity of the microbiome of different types of flour, isolate strains of LAB that synthesize exopolysaccharides from sourdoughs, and characterize them.

Materials and methods. In the work, sourdough based on oat, rice, corn, rye and buckwheat flour were used. Sourdough starters contained 20 g of flour and 30 ml of water, sourdough starters based on buckwheat flour - 20 g of flour and 50 ml of water. Sourdough was prepared at 30°C for 24 hours. LAB colony-forming units (CFU) were counted on MRS agar medium, yeast and molds were counted on GYA (glucose yeast agar with chloramphenicol). Determination of acetoin was carried out visually by the intensity of the pink color, which is characteristic of the product of the reaction of acetoin with α-naphthol in an alkaline medium, compared with the control - a suspension of the corresponding flour. In order to determine the ability to produce

exopolysaccharides, LAB was grown on modified MRS agar media with 5% sugars, namely glucose, fructose, sucrose or maltose. Determination of the taxonomic position of isolates was carried out according to morphological-cultural and physiological-biochemical characteristics using standart microbiological methods. The morphology of the cells, Gram staining, presence of catalase, the way of fermentation of carbohydrates and ability to grow at different temperatures were studied.

Results and discussion. In the composition of starters of different types of flour, LAB was determined in the amount of $1\text{-}6\times10^8$ CFU/g of starter, mold fungi - $2\text{-}43\times10^2$ CFU/g of starter, and in starters based on rice and corn flour, yeast were detected in the amount of $1\text{-}2\times10^2$ CFU/g sourdough starter. 9 strains of LAB were isolated that synthesize exopolysaccharides on MRS medium with 5% sucrose, and the absence of exopolysaccharide synthesis by these strains on MRS mediums with glucose, fructose, and maltose was observed. Of the 9 isolated strains, only 1 (from corn flour) synthesizes viscous exopolysaccharides, 1 strain (from rice flour) ferments glucose with the formation of CO_2, and 6 (2 from buckwheat, and 1 each from corn, rice, oat, and rye flour) - ferment gluconate with the formation of CO_2. For the strains that are capable of synthesizing acetoin, visual assessment showed the highest content of acetoin in sourdough based on rye flour, and the lowest - based on corn. Based on phenotypic studies, 6 strains were preliminarily assigned (2 from rye, 2 from buckwheat, 1 from corn and 1 from oat flour) to the genus *Lactobacillus* (according to the classification until 2020), 2 strains (1 from corn and 1 from rice flour) to the genus *Pediococcus* and 1 (from rice flour) to the genus *Leuconostoc*.

Conclusions. The microbiome of sourdough based on oat, rice, corn, rye and buckwheat flour was characterized. LAB strains that synthesize exopolysaccharides were isolated and characterized. According to the phenotypic characteristics, the strains were previously assigned to the genera *Lactobacillus, Pediococcus*, and *Leuconostoc*. One of the isolated strains synthesizes viscous exopolysaccharides, and strains from rye flour synthesize a greater amount of acetoin compared to strains from other types of flour, which can later be used in the creation of sourdough.

References:

1. Lau S. W. , Chong A. Q., Chin N. L., et. al Sourdough Microbiome Comparison and Benefits. Microorganisms. 2021; 9(7):1355.

2. Minutillo, S. A., Ruano-Rosa, D., Abdelfattah, A., Schena, L., & Malacrinò, A. (2022). The Fungal Microbiome of Wheat Flour Includes Potential Mycotoxin Producers. Foods (Basel, Switzerland), 11(5), 676.

3. Jurášková, D., Ribeiro, S. C., & Silva, C. C. G. (2022). Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties. Foods (Basel, Switzerland), 11(2), 156.

A COMPARISON OF *TRITICUM SPELTA* GENOTYPES USING SSR GENOTYPING

Nogin P.G.[1], Nitovska I.O.[2], Morgun B.V.[1, 2]
[1]National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute" nogin.pavlo@lll.kpi.ua
[2]Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine iranit@ukr.net, bmorgun@gmail.com

Introduction. The development of the theory and practice of improving agricultural plants is related to expanding the gene pool of cultivated plants at the expense of foreign genetic material [1]. *Triticum spelta* L. is used as a donor of valuable economic traits in crossing with bread wheat [2, 3]. Compared to durum wheat, spelt is characterized by a lower insoluble content of polymeric proteins, but a higher content of gliadins and soluble polymeric proteins, due to which it has a softer and less elastic gluten. *T. spelta* varieties also differ in the individual essential amino acids content, containing a number of micro- and macroelements, unsaturated fatty acids and other useful substances. In addition, spelt's flour has unique taste qualities and high content of vitamins of group B and is also suitable for the best quality confectionery products production [4, 5, 6, 7]. However, the spread of this culture is hindered by its low yield and a number of morphological characteristics that lower production [7,8].

Molecular markers are a valuable tool in the study of plant genetic material. A special place belongs to SSR markers (microsatellite sequences), which are repeats of 1-5 pairs of nucleotides in the genomes of eukaryotes. The comparative analysis of DNA loci allows researchers to check close varieties for their purity and compatibility, as well as to establish phylogenetic relationships [9]. The purpose of current study was the selection of SSR markers, which can be used to differentiate genotypes of *T. spelta* to determine the relationship among them.

Materials and methods. As research material, 27 genotypes of *T. spelta* and 2 genotypes of *T. aestivum* cv. Zymoyarka and Podolianka, reproduction of 2015-2022 from NCPGRU and IPPG NASU were used. To carry out the polymerase chain reaction, total DNA was extracted by CTAB method [10]. Reaction mixtures for PCR in a volume of 20 µl included: 9.3 µl of purified Millipore Milli-Q H_2O, 0.5 µl each of forward and reverse primers (10 mM), 2 µl 10x Reaction Buffer B (Solis BioDyne), 2 µl 1 mM Cresol reagent, 1.6 µl of 2 mM $MgCl_2$, 2 µl dNTP (Thermo Fisher Scientific), 1 unit of FIREPol® DNA Polymerase (Solis BioDyne), 30 ng total plant DNA.

Amplification program: denaturation – 94°C for 4 min and 34 cycles: denaturation – 94°C for 30 s; annealing – for primers *Xgwm219*, *261* and *508* [11] was 62, 59 and 50°C, respectively, for 30 s; elongation – 72°C for 30 s, final elongation – 72°C for 5 min. Amplification products were visualized after their electrophoretic separation in a 3 % agarose gel under ultraviolet light using ethidium bromide as a staining reagent [12]. The amplicon size identification was conducted using GelAnalyzer 19.1 software.

Results and discussion. Total DNA was extracted from 30 samples of *T. spelta*, *T. aestivum* cv. Zymoyarka and Podolyanka, and evaluated by gel electrophoresis (Fig. 1). The polymerase chain reactions were performed to determine the polymorphism of microsatellite loci. At this stage of the research, the results of primer analysis for the microsatellite loci *Xgwm219*, *Xgwm261* and *Xgwm508* were obtained (Table 1, Fig. 2).

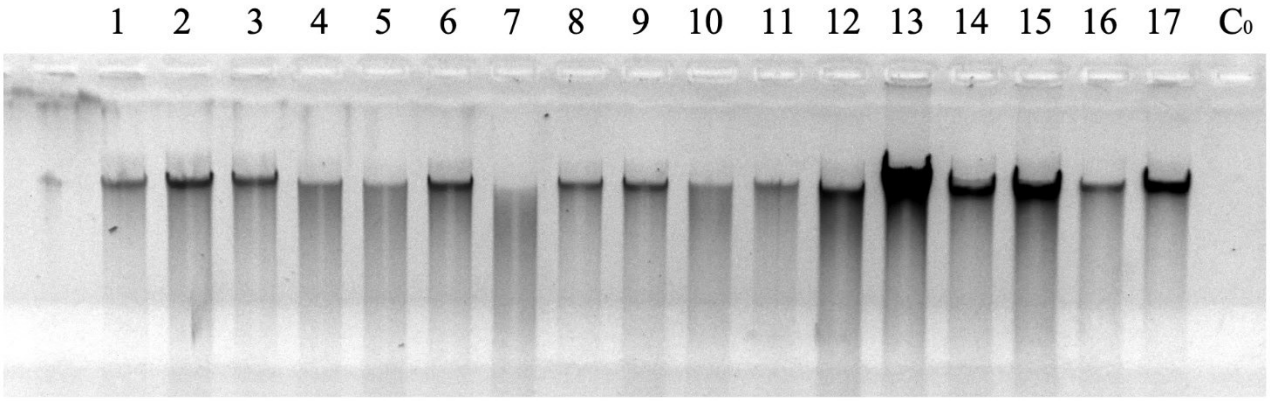


Fig. 1. Electrophoregram of total DNA extracted from seeds by CTAB method. Lane 1, *T. spelta,* var. *duhamelianum,* Poland,; 2, *T. spelta*, var. *duhamelianum,* Baulaender, Germany (Austria),; 3, *T. spelta,* var. *duhamelianum,* Frankenkorn, Germany,*; 4, T. spelta* var. *duhamelianum*, Baulaender (Bauländer); 5, *T. spelta* var. *duhamelianum*, Frankenkorn; 6, *T. spelta* var. *duhamelianum*, *T.spelta* Zorya Ukrainy 7, *T. spelta* var. *arduini*, Europe; 8, *T. spelta* Europe; 9, *T. spelta* № 851*; 10, T. spelta* № 853*; 11, T. spelta* № 845*; 12, T. spelta* Zorya Ukrainy; 13, *T. spelta*, Zuricher Rotkorn; 14, *T. spelta*, Filderweiss; 15, *T. spelta*, Oberkulmer Rothkorn; 16, *T. spelta* № 3995; 17, *T.*, Filderstolz.

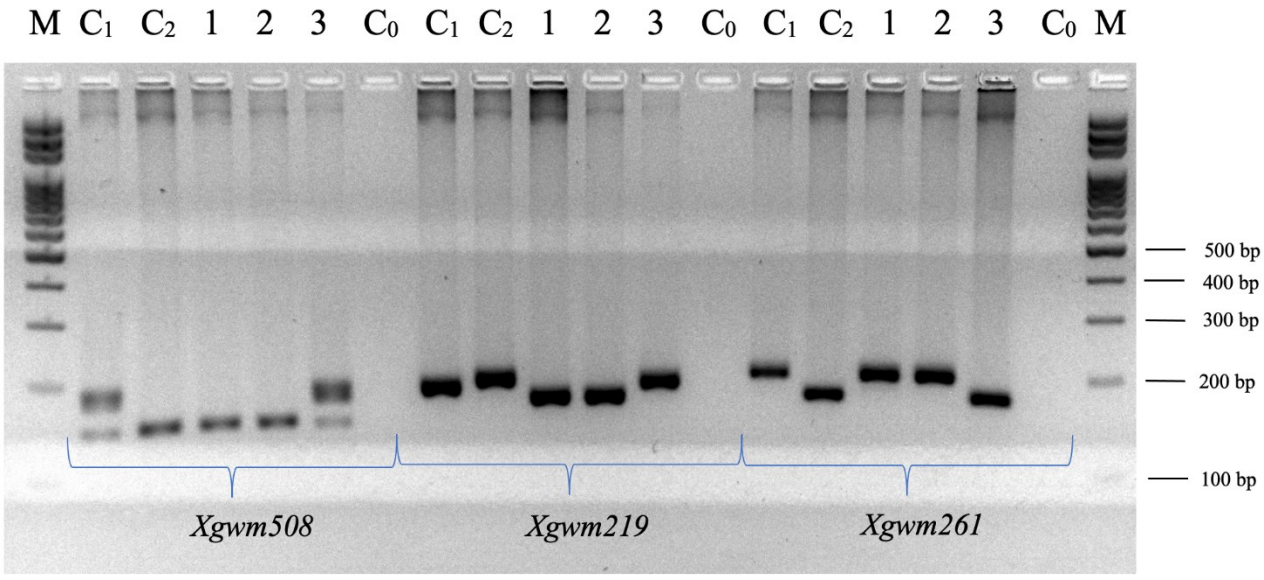


Fig. 2. Electrophoregram of DNA amplification products of *T. aestivum* and *T. spelta* for determination of loci *Xgwm508*, *Xgwm219* and *Xgwm261.* Lane 1, *T. spelta,* var. *duhamelianum,* Poland,; 2, *T. spelta*, var. *duhamelianum,* Baulaender, Germany (Austria),; 3, *T. spelta,* var. *duhamelianum,* Frankenkorn, Germany,*;* C_1, *T. aestivum,* cv. Podolianka; C_2, *T. aestivum,* cv. Zymoyarka; C_0, no DNA control.

As a result of the analysis, 11 amplicons of 141-188 bp sizes were detected in *T. spelta* and *T. aestivum* samples using all three markers. Using *Xgwm219* locus *5* amplicones were identified. *Xgwm261 - 3* amplicones were determined; *Xgwm508 – 3* amplicones were identified. The analysis results are summarized in table 1.

Table 1. The found amplicons in *T. spelta and T. aestivum samples for SSR markers.*

	Amplicons										
	Xgwm508			*Xgwm219*					*Xgwm261*		
Samples, genbank number	*141*	*144*	*171*	*158*	*163*	*173*	*179*	*188*	*166*	*171*	*181*
T. aestivum cv. Podolianka	+	-	+	-	-	+	-	-	Undefined		
T. aestivum cv. Zymoyarka	-	+	-	-	-	-	+	-	Undefined		
T. spelta var. *duhamelianum*	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
T. spelta var. *duhamelianum*, Baulaender (Bauländer)	-	+	+	-	-	-	+	-	Undefined		
T. spelta var. *duhamelianum*, Frankenkorn	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
T. spelta var. *duhamelianum*, *T.spelta* Zorya Ukrainy	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
T. spelta var. *arduini*, Europe	-	+	-	-	+	-	-	-	Undefined		
T. spelta Europe	-	+	-	-	+	-	-	-	Undefined		
T. spelta, № 851	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
T. spelta, № 853	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
T. spelta, № 845	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
T. spelta, Zorya Ukrainy	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
T. spelta, Zuricher Rotkorn	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
T. spelta, Filderweiss	+	-	+	-	-	-	-	+	Undefined		
T. spelta, Oberkulmer Rothkorn	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
T. spelta, № 3995	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
T. spelta, Filderstolz	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
T. spelta, Rouquin	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
T. spelta, Zollernspelz	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-
T. spelta, Alkor	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
T. spelta, Badengold	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
T. spelta, Badenstern	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
T. spelta, Frankenkorn	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
T. spelta, № 3897	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
T. spelta, № 3939	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
T. spelta var. *griseoturanorecens*	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
T. spelta var. *album*	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
T. spelta var. *caeruleum*	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
T. spelta var. *caeruleum*, Tridentina	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
T. spelta var. *album*	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
T. spelta var. *caeruleum*, CDC Zorba	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
T. spelta var. *arduini*	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+

Conclusions. Molecular markers analysis showed differences among spelt genotypes. The markers of microsatellite loci *Xgwm219, Xgwm261* and *Xgwm508* are suitable to analyze both *T. aestivum* and *T. spelta* genotypes by PCR. Based upon the obtained polymorphic amplicons, the phylogenetic relationships can be easily established among different genotypes.

References:

1. Goncharov N.P.; Kondratenko E.Ya. Origin, domestication and evolution of wheat // Vestnik VOGyS. – 2008. – 12, No. ½ – P. 159-179.

2. Drobot V.I., Semenova A.B., Mykhonik L.A. Comparative characteristics of the chemical composition and technological properties of whole wheat flour and spelled flour // *Storage and Processing of Grain*. – 2014. – No. 4. – P. 37-39.

3. Zvedenyuk T. Polba – grain from the stone age // Grain: Monthly journal of the modern agro-industrialist. - 2013. - No. 7. - P. 82-90.

4. Jorgensen J.R., Olsen C.C. Yield and quality assessment of spelt (Triticum spelta L.) compared with winter wheat (Triticum aestivum L.) in Denmark // Spelt and Quina. – Working Group Meeting (24–25 Oct. 1997). – Wageningen, the Netherlands, 1997. – P. 33–38.

5. Eltun R., Aasven M. The possibilities for spelt cultivation in Norway // Spelt and Quina. – Working Group Meeting (24–25 Oct. 1997). – Wageningen, the Netherlands, 1997. – P. 7–13.

6. Dahlstedt L. Spelt Wheat (Triticum aestivum ssp. spelta (L.) An alternative crop for ecological farming systems // Spelt and Quina. – Working Group Meeting (24–25 Oct. 1997). – Wageningen, the Netherlands, 1997. – P. 3–6.

7. Sichkar S.M., Velikozhon L.G., Dubrovna O.V. Analysis of Glu1 loci in hybrids *Triticum spelta* L. × *Triticum aestivum* L. *Factors of Experimental Evolution of Organisms*. - 2017. - Vol. 21. - P. 187-192.

8. Shelepov V.V., Havrilyuk N.N., Vergunov V.A. Wheat: biology, morphology, selection, seed production. - K.: Logos, 2013. - 498 p.

9. Lakhneko O.R., Velikozhon L.G., Sichkar S.M., Stepanenko A.I., Morgun B.V. Comparative evaluation of the genotypes of *Triticum spelta* and *T. aestivum* using microsatellite markers // Collection of materials of the International scientific and practical conference "Modern directions of breeding improvement of wheat", dedicated to the 100th anniversary of wheat breeding at the NCSSVR - Breeding and Genetics Institute, Odesa, June 1-3, 2016. - pp. 93-94.

10. Murray M. G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucl, Acids Res.* - 1980, - 8(19). - P. 4321-4325.

11. Roder MS et al. (1998) A microsatellite map of wheat Genetics 149:2007-2023.

12. Brody J. Ker S.. History and principles of History and principles of conductive media for standard DNA electrophoresis // *Anal.: Biochem.* - 2004. - 333. - P. 1-13.

CLASSIFICATION OF BRAIN-ON-CHIP MICROSYSTEMS

Snihur N.O., Kovalchuk P.S.
Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, snihur-bf11@lll.kpi.ua, kovalchuk.polina@lll.kpi.ua, lutsenko.tetiana@lll.kpi.ua

Introduction. For a long period of time, 2D and 3D cultures, model animals have been used for experiments, but in recent years, organ-on-chip (OoC) technology has become more popular and it is rapidly gaining significant research attention (figure 1). The combination of the "laboratory-on-chip" with the methods of cell biology moderates the research methods and makes it possible to design physiological processes of the human body on models of multicellular human organs in vitro [1].

The aim of this article is to overview the most interesting and important OoCs, which recreate brain structures, the progress of creating those chips and their classification.

Materials and methods. Analytical overview of the latest articles and basic literature on the topics: organ-on-chip and brain-on-chip (BoC), their classification and latest innovations.

Results and discussion. OoC in general, and BoC in particular, is a multi-channel (tens or hundreds of microns in size) three-dimensional microfluidic in vitro platform that allows to model tissues, organs, their systems, replacing a living organism with a model. The reaction chambers of the device are filled with living cells, which are connected through the membranes and placed on opposite sides to simulate real organs.

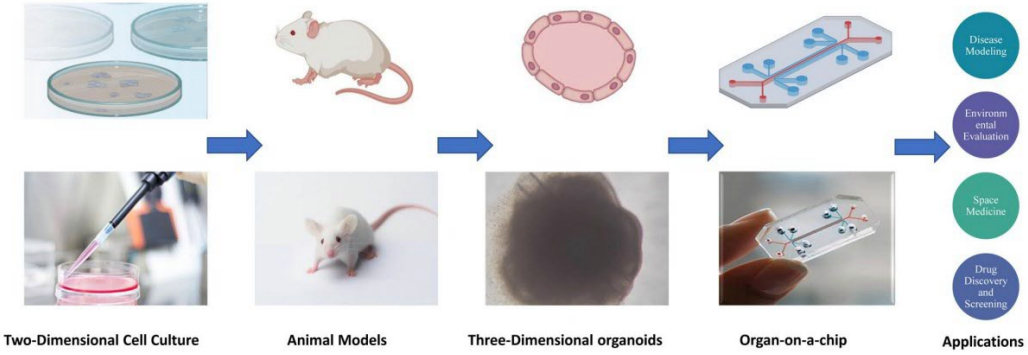


Fig. 1. The experimental models' evolution [2].

OoC can be useful for studying pathophysiological reactions, modeling the interactions of cells with metabolites, gases with circulating cells [3], the effect of various drugs on organs and tissues and determining their effectiveness or harness.

As the technology is quite young, there is no basic classification of BoCs, however, they can still be divided into categories depending on their design and functional purpose (figure 2).

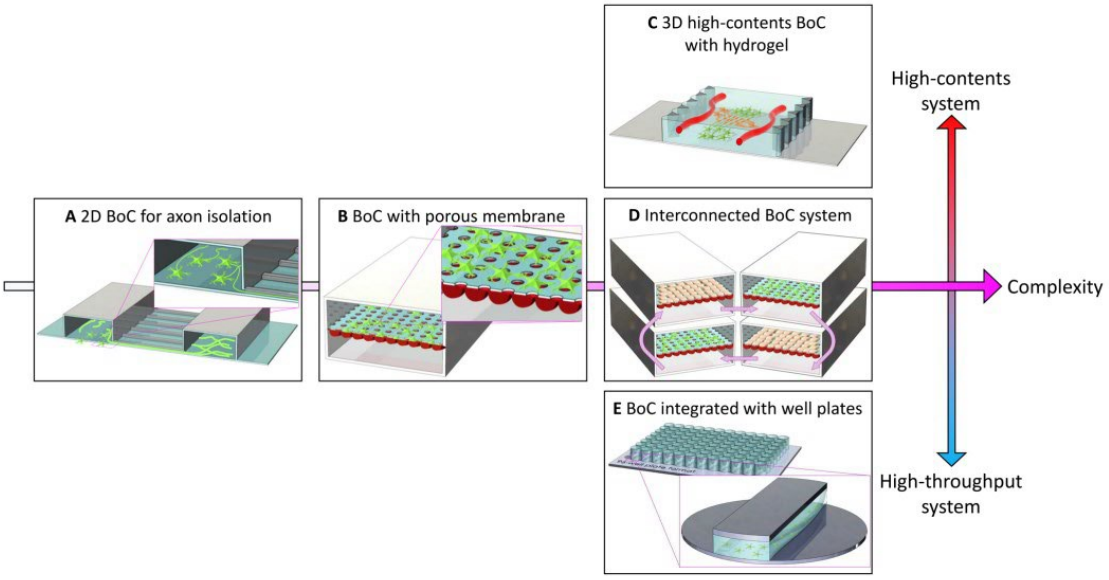


Fig. 2. a - A 2D BoC for axon isolation; b - A BoC with porous membrane; c - A 3D high-content BoC with hydrogel; d - An interconnected multichip system; e - A BoC integrated with well plate [4]

First group is 2D BoC for axon isolation. Within the single chip different height microchannels are created, which allows to separate neuron's axon and soma, so that only the axon can pass through the channels. It allows scientists to lead axon-specific drug testing, their regeneration after axotomy [5], growth [6] of the axon and their myelination.

The second group can be characterized by sandwiched between two microchannels porous membrane and various cells that are attached on different sides of it. It allows two different types of cells to communicate through the pores of membrane which creates a great possibility to study cell–cell communication or measure of transendothelial electrical resistance of blood-brain barrier (BBB) [7].

Third type of chips is able to mimic the brain tissue with different cell types and create in vivo-like microenvironment for the research of 3D neural circuit formation and key structures, such as the BBB and neurovascular units, neurons and their axodendritic synapses, and the additional role of oligodendrocytes, astrocytes and microglia [8]. Further development of hydrogels and recognition of in vitro models of BBB-on-chip based on hydrogel by regulatory and industrial authorities can lead to a shortened screening and help in the further development of the brain tumors.

The interconnected BoC system were developed to recreate interactions between various neural cells and look closer into changes in the metabolism of neurovascular unit. Moreover, this system is able to simulate the communication of various BoCs, which allows to link the brain to the liver, heart, kidneys and analyze the reaction of organs to different drugs. For example, Miller and Shuler [9] developed a system that represents 13 main parenchymal organs, including brain, and physiological barrier tissues.

And last but not least, BoC integrated with well plate is a fifth group that is created for high-throughput analysis and is compatible with conventional labwares. Merging of a traditional platform with a BoC can give us the ability to perform a high-throughput

quantification of cell responses [10]. For example, scientists were able to show the ability of the brain cancer chip to culture tumor-derived human GBM cells in microwells and tested the effectiveness of clinically used drugs (TMZ and BEV) for the treatment of tumors [11].

Conclusion. However, despite a great progress in this field of science, there are still certain disadvantages of these systems that should be improved in next enhancements. One of the typical issues is the materials selection for the creation of chips, which is difficult due to the need for high biocompatibility, the complexity of structure, manufacturing (in particular, for widespread usage in laboratories) and maintaining adequate prices or reuse possibility for commercial distribution. In addition, when creating BoC systems, it is important to correctly scale organelles in accordance with their human sizes, which is achieved with the help of mathematical modeling of microfluidic elements (channels/capillaries, vessels, circulatory systems and this aspect also needs to be improved. Moreover, attractive systems that combine many organs or parts of the brain itself also have their drawbacks, for example, the more parts they combine, the less sensitive the design becomes and the greater the risk of obtaining unreadable and inaccurate results is.

References:

1. Yum K. et al. Physiologically relevant organs on chips. *Biotechnology journal* 2014, 9(1), pp 16–27, https://doi.org/10.1002/biot.201300187.
2. Jiang L. et al. Organ-On-A-Chip Database Revealed – Achieving the Human Avatar in Silicon. *Bioengineering* 2022, 9(11), pp 685, https://doi.org/10.3390/bioengineering9110685.
3. Kim H. et al. Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow. *Lab on a Chip* 2012, 12(12), pp 2165–2174, https://doi.org/10.1039/c2lc40074j.
4. Maoz B. Brain-on-a-Chip: Characterizing the next generation of advanced in vitro platforms for modeling the central nervous system. *APL bioengineering* 2021, 5(3), pp 030902, https://doi.org/10.1063/5.0055812.
5. Tong Z. et al. A microfluidic neuronal platform for neuron axotomy and controlled regenerative studies. *RSC advances* 2015, 5(90), pp 73457–73466, https://doi.org/10.1039/C5RA11522A.
6. Peyrin J. et al. Axon diodes for the reconstruction of oriented neuronal networks in microfluidic chambers. *Lab on a Chip* 2011, 11(21), pp 3663–3673, https://doi.org/10.1039/c1lc20014c.
7. Wang Y., Abaci H., Shuler M. Microfluidic blood–brain barrier model provides in vivo-like barrier properties for drug permeability screening. *Biotechnology and bioengineering* 2017, 114(1), pp 184–194, https://doi.org/10.1002/bit.26045.
8. Amirifar L. et al. Brain-on-a-chip: Recent advances in design and techniques for microfluidic models of the brain in health and disease. *Biomaterials* 2022, 285, pp 121531, https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121531.
9. Miller P., Shuler M. Design and demonstration of a pumpless 14 compartment microphysiological system. *Biotechnology and bioengineering* 2016, 113(10), pp 2213–2227, https://doi.org/10.1002/bit.25989.
10. Lee S. et al. Modeling neural circuit, blood–brain barrier, and myelination on a microfluidic 96 well plate. *Biofabrication* 2019, 11(3), pp 035013, https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab1402.
11. Akay M. et al. Drug screening of human GBM spheroids in brain cancer chip. *Scientific reports* 2018, 8(1), pp 15423, https://doi.org/10.1038/s41598-018-33641-2.

CLASSIFICATION OF VECTORS FOR GENE DELIVERY IN EUKARYOTIC CELLS

Snihur N.O., Kovalchuk P.S., Morgun B.V.
Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, snihur-bf11@lll.kpi.ua, kovalchuk.polina@lll.kpi.ua, morgun.bogdan@lll.kpi.ua

Introduction. A eukaryotic vector (EV) is a small DNA molecule capable of autonomic replication in animal cells. In addition to nucleotide sequences (NS) that ensure replication, EV should contain genes being used as selectable markers. It has one or more unique restriction sites to insert DNA being cloned. Since the direct cloning of recombinant DNA in animal cells would be an expensive and inefficient procedure, the EV is utilized to express already cloned heterologous NS in cells, while the cloning process itself is carried out in bacteria. For expression in eukaryotic cells, recombinant DNA is placed under the control of particular regulatory elements, which are recognized by the fermentative system of the host. The aim of this article is to outline and classify different vectors that can be applied for the delivery of genes.

Materials and methods. Analytical overview of the latest publications in the field of EV for gene delivery.

Results and discussion. As the result of the literature review a certain classification of vectors was created and will be discussed below.

Retroviral vectors are the ones being used most often. For clinical purposes, they are usually constructed on the basis of Moloney mouse retrovirus. They are freed from all viral genes and show a relatively long and safe period of expression. Packaged cell lines are constantly being exposed to viral genes that are necessary for replication and packaging of the genome. The vector sequences with therapeutic genes are flanked by the structural sequence of virus and packaging signal. After that the NS, required for packaging the vector DNA into a virion, flanks the expression gene. The main advantage of this vector is its low immunogenicity. In fact, the DNA integrates into the host cell genome and stably replicates within genomic DNA instead of remaining as an independent plasmid replicon in the cytoplasm. On the other hand, lower throughput of insertion, titers (than in other viral vectors), replication efficiency in self-inactivating (SIN) vectors [1] and risk of insertional mutagenesis, causing disruption of host gene function can be a huge problem while working with these vectors.

Adenoviruses is a family of DNA viruses that contains one double-stranded DNA molecule and has no lipid envelope. It can infect most types of cells (dividing and non-dividing) and replicate in the nucleus of an infected cell as episomal elements and have a high transduction efficiency. The insert size for target gene is 20,000 base pairs, which is quite a large capacity for recombinant adenoviral vectors. For example, after direct intracranial injection of recombinant adenovirus, its ability to infect neurons, astrocytes, microglia and ependymocytes was discovered [2].

Recombinant Adeno-associated virus is one of the most promising delivery vector for gene therapy and neurobiology due to its non-pathogenic properties, low immunogenicity to the host, tropism to most cells and tissues, high transduction efficiency and long-term expression. The only drawback it has is the small capacity of the vector (up to 5 thousand base pairs) [5].

Due to the ability of Lentiviruses, especially the human immunodeficiency virus (HIV), to include a relatively large amount of genetic material (up to 8 thousand base pairs) and to infect dividing and non-dividing cells, they can also be promising vectors for gene delivery *in vivo* [3]. They have a relatively low frequency of target gene insertion but can provide a long-term expression period of the transgene and induce a minimal immune response of the host organism. However, some authors consider these vectors to be unsuitable for *in vivo* delivery because of the increased risk of insertional mutagenesis.

Herpes simplex virus (HSV) is distinguished by its large size, big DNA capacity and efficient transduction of many tissues, including the central neural system. The virus itself includes approximately 80 genes. IE3 locus is often replaced during vector development. Other genes may be excluded too, which allows researchers to increase the volume of the vector or to suppress several genes of interest. The disadvantages of HSV vectors are short-term expression of cloned genes, toxicity to target cells, low transduction efficiency and the ability to infect only non-dividing cells [7]. Preclinical studies of this vector type are currently underway. Clinical trials in this area are likely to begin soon [6].

It has been shown that naked plasmid DNA participates in gene expression in the brainstem when intramuscularly injected into the tongue or when injected intraventricularly. Moreover, infusion of naked plasmid DNA into the area of spinal cord damage induces transgene expression in neurons and astrocytes. Such plasmid DNA is an attractive non-viral gene vector because of its simplicity, ease of production in bacteria and manipulation with standard recombinant DNA techniques. It also shows very little dissemination and transfection at distant sites after birth and can be re-injected into mammals (including primates) many times without eliciting an immune response. Furthermore, long-term expression of a foreign gene from naked plasmid DNA is possible even without chromosomal integration. In such a case the target cell needs to be postmitotic (as in muscle) or slowly mitotic (as in hepatocytes) and the immune response against the foreign protein is not formed. One of the important limitations of these methods is the problem of safe transfer of genes to specific organs in combination with their therapeutic effectiveness, which leads to stable gene expression [8].

Last but not least, viral vectors can be encapsulated in liposomes (figure 1) made of cholesterol, phosphatidylcholine, phosphatidylglycerol, DOPE, DS, CHEMS, TMAG, DLPS, DOTAP that define the total charge of the liposomes. Encapsulation can be monolayer or bilayer. It helps improve transduction efficiency of vectors, avoid preexisting neutralizing antibodies and transduce cells that are otherwise difficult to transduce with a viral vector alone.

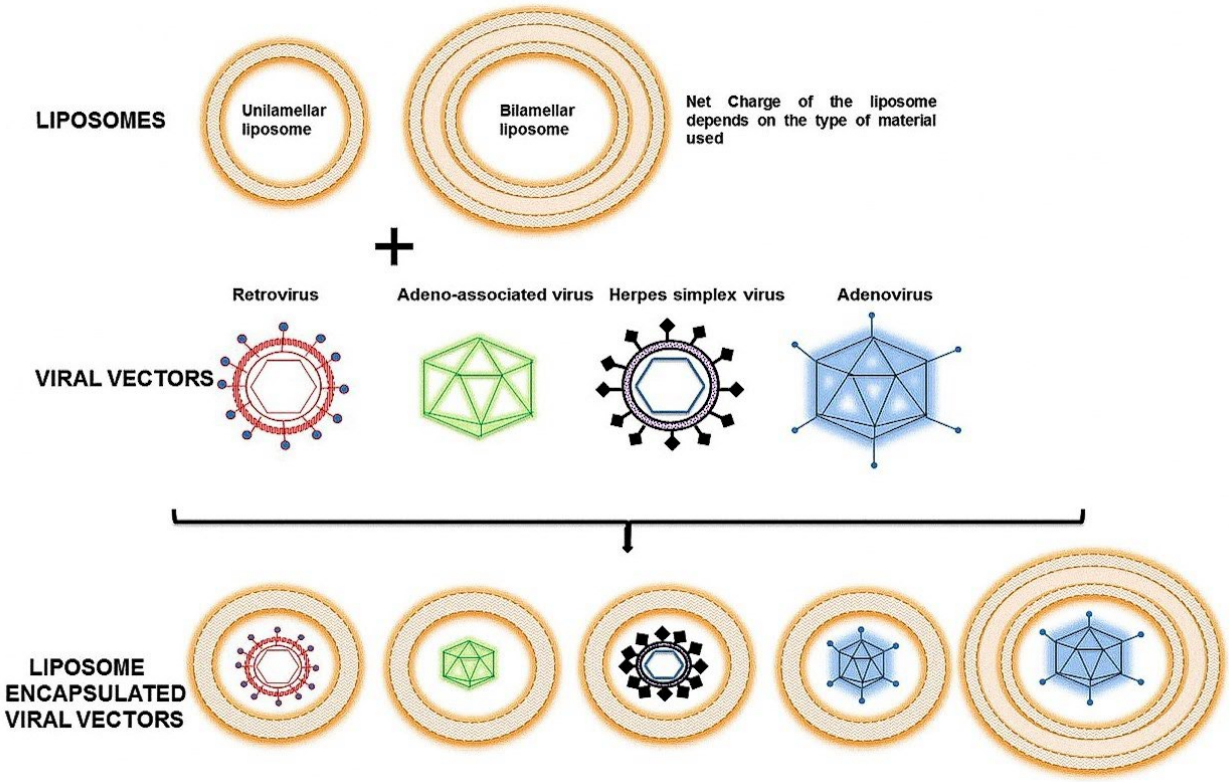


Figure 1. Liposomal encapsulation of viral vectors [9].

Conclusions. At the moment, no universal EV for the creation of recombinant DNA exists. All vector systems may have their own disadvantages and advantages specifics for each case. That means more studies in this field of science are required as it is the promising technique for curing a lot of diseases and cloning organisms.

References:

1. Mosier D. Introduction for "Safety Considerations for Retroviral Vectors: A Short Review". *Applied Biosafety* **2004**, 9(2), pp 68-75, http://doi.org/10.1177/153567600400900203.

2. Pichla-Gollon S., Lin S., Hensley S., Lasaro M., Herkenhoff-Haut L., Drinker M., Tatsis N., Gao G., Wilson J., Ertl H., Bergelson J. Effect of preexisting immunity on an adenovirus vaccine vector: *in vitro* neutralization assays fail to predict inhibition by antiviral antibody in vivo. *Journal of virology* **2009**, 83(11), pp 5567–5573, https://doi. org/10.1128/jvi.00405-09.

3. Verhoeyen E., Cosset F. Surface-engineering of lentiviral vectors. *The Journal of Gene Medicine: A cross-disciplinary journal for research on the science of gene transfer and its clinical applications* **2004**, 6(S1), pp 83–94, https://doi. org/10.1002/jgm.494.

4. Coura R. Viral vectors in neurobiology: therapeutic and research applications. *InTech* **2012**, 9(2), pp 75–89, https://doi.org/10.5772/32492.

5. Somia N., Verma I. Gene therapy: trials and tribulations. *Nature Reviews Genetics* **2000**, 1(2), pp 91–99, https://doi. org/10.1038/35038533.

6. Lundstrom K. Viral Vectors in Gene Therapy. *Diseases* **2018**, 6(2), pp 42, https://doi.org/10.3390/diseases6020042.

7. Hukkanen V. Herpesvirus vectors in gene therapy. *Open Virol J* **2010**, 4(3), pp 94–95, https://doi.org/10.2174/18743 57901004030094.

8. Misra A. (ed.). Challenges in delivery of therapeutic genomics and proteomics. *Elsevier* **2011**, pp i-iii, ISBN 9780123849649, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384964-9.00018-9.

9. Balakrishnan B., David E. Biopolymers augment viral vectors based gene delivery. *Journal of Biosciences* **2019**, 44, pp 1–8, https://doi.org/10.1007/s12038-019-9905-3.

ОТРИМАННЯ ЛІКУВАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЛЕЙКОЗУ: МОЖЛИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Ахмедова В.А.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, lutsenko.tetiana@lll.kpi.ua, ahmedovavioleta01@gmail.com

Вступ. Лейкоз, або рак крові, є одним з найбільш поширених видів онкологічних захворювань, що стосується гематологічної системи людини. У світі щорічно діагностують понад 400 000 нових випадків лейкозу, при цьому кількість хворих збільшується в року в рік. Для багатьох пацієнтів лейкоз є смертельною хворобою, яка потребує негайного та ефективного лікування. Використання стовбурових клітин для лікування лейкозу має значний потенціал, оскільки вони можуть замінити пошкоджені клітини крові та відновити гемопоез. За даними клінічних досліджень, лікування лейкозу за допомогою стовбурових клітин вже дало деякі перспективні результати, зокрема вдвічі зменшило ризик повторного виникнення лейкозу після трансплантації кісткового мозку у дітей з акутною лімфобластною лейкемією. Таким чином, використання стовбурових клітин для лікування лейкозу є одним з найбільш перспективних напрямків розвитку медицини та може значно зменшити кількість смертей від цієї хвороби.

Метою роботи є дослідження на основі опрацьованих джерел розвитку методів і технологій отримання стовбурових клітин для лікування лейкозу; наведення ролі стовбурових клітин у лікуванні захворювання та потенційних переваг над іншими методами; визначення основних недоліків використання стовбурових клітин для лікування лейкемії, а також узагальнення перспективи використання генетично модифікованих стовбурових клітин.

Матеріали та методи. Одним з найбільш поширених методів отримання стовбурових клітин є ізоляція їх з ембріонів. Є декілька методів виділення внутрішньої клітинної маси ембріонів людини: механічне розсічення, де маса виділяється механічним тиском, лазерне розсічення та імунохірургічні процедури [1-4]. Є альтернативний метод, а саме використання індукованих плюріпотентних стовбурових клітин. Цей метод передбачає перепрограмування зрілих клітин організму у стовбурові клітини, що здатні до самовідновлення та диференціації. Індуковані плюріпотентні стовбурові отримують шляхом введення у зрілі клітини набору генів, що відповідають за їх плюріпотентність [5]. Інший метод - використання стовбурових клітин кісткового мозку, які мають великий потенціал для диференціації в клітини крові. Ці клітини можуть бути отримані з донорів або з самого пацієнта, якому будуть проводитися процедури [6]. Недавні дослідження показали можливість отримання стовбурових клітин з пуповинної крові та тканин, що є неінвазивним та безпечним методом для отримання стовбурових клітин. Крім того можливо отримати стовбурові клітини з жирової тканини, що є безболісним та неінвазивним методом [7]. Пересадка стовбурових клітин поділяється на автологічну та алогенну та може бути корисною для лікування анемії, що викликана дефіцитом кров'яних тілець. В автологічній пересадці стовбурові клітини збирають з крові пацієнта та

зберігають замороженими до моменту необхідного використання, а потім вводять пацієнту після дози хіміотерапії та/або променевої терапії для знищення ракових клітин. Пересадка стовбурових клітин має ряд переваг в порівнянні з методами хіміотерапії та радіаційної терапії, а саме: є високо ефективною, адже дозволяє замінити хворі клітини на здорові, що сприяє відновленню кількості та функцій нормальних клітин крові; зменшує ризики повторного виникнення лейкозу; є низько токсичною, оскільки пересадка стовбурових клітин може знизити токсичність порівняно з іншими методами лікування, такими як хіміотерапія та радіаційна терапія; підвищує якість життя пацієнтів, адже відновлюється нормальна функція кровотворної системи. Тоді як в алогенній трансплантації стовбурові клітини беруть від відповідного донора. Щоб визначити, чи є стовбурові клітини донора сумісними з організмом реципієнтом, пацієнт проходить тестування антигени людських лейкоцитів (HLA). У тестуванні HLA порівнюється кров і тканинний тип пацієнта з кровними зразками донора [8]. Автологічна пересадка стовбурових клітин (Auto-HSCT) є встановленим підходом до лікування мієломи на гострому етапі, але для старших пацієнтів вимагає додаткового покращення. Гостра реакція організму на пересаджені стовбурові клітини серед пацієнтів з мієломою, які проходять алогенну пересадку стовбурових клітин (allo-HSCT), становить 50 % порівняно з виникненням у 5%-20% пацієнтів, які проходять автотрансплантацію стовбурових клітин (auto-SCT) (рис.1) [9].

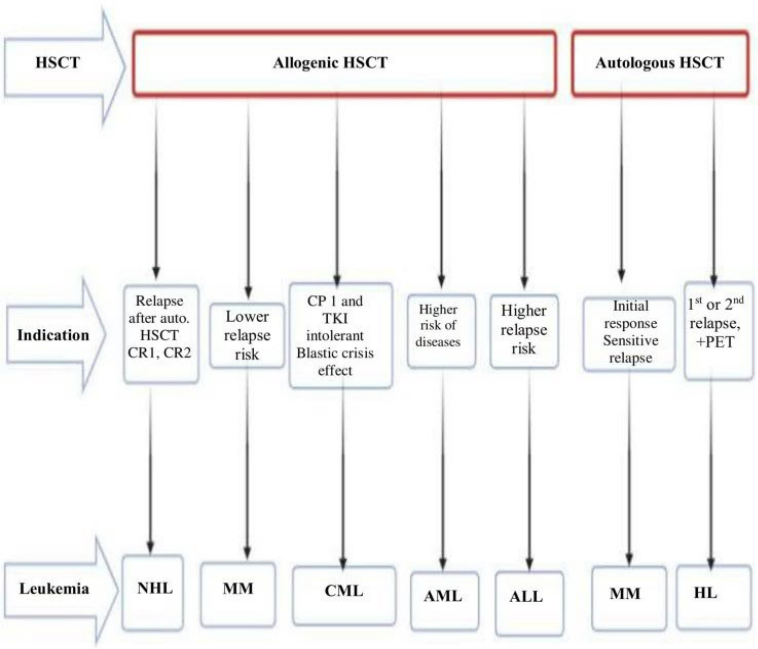


Рис. 1. Порівняння алогенної та автологічної трансплантації стовбурових клітин при гематологічних захворюваннях [9].

Абревіатури: All, гострий лімфобластний лейкоз; AML, гострий мієлоїдний лейкоз; CML, хронічний мієлоїдний лейкоз; HL, Ходжкінський лімфом; MM, множинна мієлома; NHL, не-HL.

Автологічна трансплантація стовбурових клітин застосовується як протокол лікування MM та HL, завдяки її початковій ефективності, низькій

чутливості до рецидивів та позитивним результатам позитронно-емісійної томографії (+PET). Пацієнти з вищим ризиком або прогресуванням AML лікуються за допомогою allo-HSCT. Хронічна фаза 1 (CP1), непереносимість TKI дозволяють allo-HSCT бути стандартним методом для лікування CML. allo-HSCT є також варіантом лікування для пацієнтів NHL, що мають індикації повної ремісії 1 та 2 (CR1 та CR2), а також рецидив після auto-HSCT. Хоча вони мають токсичні ефекти на графт проти лейкемії, вони є значущою альтернативою клітинній терапії для лікування гематологічних захворювань.

Основними недоліками пересадки стовбурових клітин для лікування лейкемії є: висока вартість процедури, що змушує пацієнтів шукати інші, менш коштовні альтернативи; ризик розвитку гострої реакції графт-гострої хвороби, коли імунна система донора атакує тканини отримувача; недостатньо розвинена технологія отримання, зберігання та пересадки стовбурових клітин, що може призвести до неякісного лікування і ускладнень; ризик зараження інфекційними захворюваннями під час проведення процедури пересадки стовбурових клітин; обмежена кількість донорів, з яких можна отримати стовбурові клітини, що обмежує можливість проведення лікування для деяких пацієнтів [10-12].

Результати та обговорення. Методи отримання стовбурових клітин для лікування лейкозу є активно вивченими вченими та медичними дослідниками, і на сьогоднішній день є багатообіцяючими. Вони можуть стати основою нових, більш ефективних та безпечних методів лікування лейкозу та інших захворювань в майбутньому. Генетично модифіковані стовбурові клітини мають потенціал стати перспективним методом лікування лейкемії. Для цього використовують технології генної інженерії, які дозволяють змінювати генетичний матеріал клітин з метою поліпшення їх терапевтичного потенціалу. Наприклад, генетично модифіковані стовбурові клітини можуть бути здатні до вироблення токсинів, які вбиватимуть клітини лейкемії. Також можливо використовувати генно-редагуючі технології, щоб відновити нормальну функцію генів, які були пошкоджені внаслідок лейкімії [13].

Висновки. На основі опрацьованих джерел було визначено, що метод отримання стовбурових клітин стикається з етичними та правовими обмеженнями, тому вчені працюють над розвитком альтернативних методів, таких як використання індукованих плюріпотентних стовбурових клітин, стовбурових клітин кісткового мозку, пуповинної крові та жирової тканини. Алогенна та автологічна трансплантація стовбурових клітин грає ключову роль для одужання хворих на лейкемію. Хіміотерапія та радіаційна терапія мають певні успіхи, проте вони часто супроводжуються побічними ефектами та дають тривалу ремісію, тоді як трансплантація стовбурових клітин не дає таких побічних ефектів. Найбільшим недоліком трансплантації стовбурових клітин є ризик розвитку гострої реакції графт-гострої хвороби. Необхідно довести ефективність та безпечність використання генетично модифікованих клітин для лікування лейкозу шляхом додаткових досліджень та клінічних випробувань, щоб впровадити це методи в клінічну практику.

Список використаної літератури:

1. Meng G., Liu S., Li X., Krawetz R., Rancourt D. E. Derivation of human embryonic stem cell lines after blastocyst microsurgery. *Biochemistry and Cell Biology.* 2010;88(3):479–490. doi: 10.1139/O09-188.

2. Strom S., Inzunza J., Grinnemo K. H., et al. Mechanical isolation of the inner cell mass is effective in derivation of new human embryonic stem cell lines. *Human Reproduction.* 2007;22(12):3051–3058. doi: 10.1093/humrep/dem335.

3. Tanaka N., Takeuchi T., Neri Q. V., Sills E. S., Palermo G. D. Laser-assisted blastocyst dissection and subsequent cultivation of embryonic stem cells in a serum/cell free culture system: applications and preliminary results in a murine model. *Journal of Translational Medicine.* 2006;4(1):p. 20. doi: 10.1186/1479-5876-4-20.

4. Turetsky T., Aizenman E., Gil Y., et al. Laser-assisted derivation of human embryonic stem cell lines from IVF embryos after preimplantation genetic diagnosis. *Human Reproduction.* 2008;23(1):46–53. doi: 10.1093/humrep/dem351

5. Morgan M. Stanton, Evangeline Tzatzalos, Matthew Donne, Nikola Kolundzic, Ingvar Helgason, Dusko Ilic, Prospects for the Use of Induced Pluripotent Stem Cells in Animal Conservation and Environmental Protection, *Stem Cells Translational Medicine*, Volume 8, Issue 1, January 2019, Pages 7–13, https://doi.org/10.1002/sctm.18-0047

6. Xiao N. Application of Bone Marrow Stem Cell-Based Therapy in Bone Loss Diseases. Curr Pharm Des. 2017;23(41):6288-6297. doi: 10.2174/1381612823666170601113348. PMID: 28571551.

7. MD L. A. C. Stem Cell Therapy: A Comprehensive Overview (2023). *DVC Stem | Advanced Stem Cell Therapy Clinic*. URL: https://www.dvcstem.com/post/stem-cell-therapy.

8. Markman M. Leukemia Stem Cell Transplantation: Options & More. *Cancer Treatment Centers of America*. URL: https://www.cancercenter.com/cancer-types/leukemia/treatments/stem-cell-transplantation.

9. Dessie G, Derbew Molla M, Shibabaw T, Ayelign B. Role of Stem-Cell Transplantation in Leukemia Treatment. Stem Cells Cloning. 2020 Aug 10;13:67-77. doi: 10.2147/SCCAA.S262880. PMID: 32982314; PMCID: PMC7493021.

10. Munoz, J., Shah, N., Rezvani, K., & Hosing, C. (2018). Concise Review: Cord Blood Transplantation: Past, Present, and Future. Stem cells translational medicine, 7(9), 651-657.

11. Craddock, C., & Nakamoto, B. (2017). Transplantation of hematopoietic stem cells from alternative donors. Hematology, Am Soc Hematol Educ Program, 2017(1), 358-365.

12. Koreth, J., & Antin, J. H. (2017). The role of stem-cell transplantation in the treatment of acute leukemia. The Lancet Oncology, 18(9), e498-e512.

13. Brentjens, R.J., Davila, M.L., Riviere, I., Park, J., Wang, X., Cowell, L.G., Bartido, S., Stefanski, J., Taylor, C., Olszewska, M., Borquez-Ojeda, O., Qu, J., Wasielewska, T., He, Q., Bernal, Y., Rijo, I.V., Hedvat, C., Kobos, R., Curran, K., Steinherz, P., Jurcic, J., Rosenblat, T., Maslak, P., Frattini, M., Sadelain, M. (2013). CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. Science Translational Medicine, 5(177), 177ra38. doi: 10.1126/scitranslmed.3005930

ТЕХНОЛОГІЯ ВИГОТОВЛЕННЯ АПЛІКАЦІЙ З ПОЛІМЕРНИМ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИМ ПОКРИТТЯМ КОМПЛЕКСНОЇ СОРБЦІЙНОЇ, ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ ТА РЕПАРАЦІЙНОЇ ДІЇ

Баланенко М.В.[1], Мамілов С.О.[2], Горго Ю.П.[1]
[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського, maxim.balanenko@gmail.com, yugorgo@ukr.net
[2]Інститут магнетизму НАН України

Вступ. Сучасні перев'язні матеріали по своєму оформленню та властивостям суттєво відрізняються від традиційних текстильних матеріалів. Вони доповнились різними видами плівок, плівок-композитів, губок, гідроколоїдів, паст, гелів та комбінації інших різних матеріалів. Цьому сприяло зміна поглядів на оптимальні умови заживлення ран, згідно з якими вологе середовище добре сприяє активації репараційних процесів, а покриття ран має не тільки дренаж пораненої поверхні, а і підтримку оптимального мікроклімату, насамперед паро- та повітропроникності [1]. Від якості, хімічного складу і структури ранозахисного покриття і реакції на нього оточуючих тканин значно залежить результат виздоровлення [2].

Відомо, що диметилсульфоксид (ДМСО) виявляє протизапальну активність, виявляє антиексудативний ефект, гальмує активність протеаз, синтез простагландинів, зміцнює мембрани лізосом, зменшує клітинну інфільтрацію у вогнищі запалення. гальмує агрегацію тромбоцитів, пригнічує процеси ексудації у вогнищі запалення [3]. 33% розчин ДМСО швидко приводить до зниження набряку м'яких тканин, стимулює репаративні процеси в тканинах, проліферативні процеси у вогнищі запалення. Препарат не має алергуючої дії, не викликає контактної сенсибілізації при нашкірній аплікаціїі і може розглядатися як симптоматичний знеболюючий засіб при болючих синдромах різного походження [4]. *П*ричиною зниження ефективності відомих *ранозахисних* стрічок і аплікацій є односпрямованість їхньої дії: тільки сорбційна, антимікробна, протеолітична тощо. Цей недолік можна виправити шляхом створення аплікацій комплексної дії, про що піде мова у роботі.

*Метою роботи була р*озробка технології виготовлення аплікацій з полімерним біологічно активним покриттям комплексної сорбційної, протеолітичної, репараційної дії та захисту від інфекцій.

Матеріали та методи. В методиці підготовки гелю концентрація розчину полівінілпірролідону (ПВП) у воді була 20 мас.%, а добавкою 0,1н NaOH доводили pH розчину до 8. Отриманий розчин поміщали в піч і нагрівали при 80^0C протягом 5 годин для проведення гідролізу ПВП з метою розриву пірролідонових кілець. У попередньо приготовлений розчин лактату хітозану концентрацією 3 мас.%, по краплях при перемішуванні додавали гідроксид натрію, щоб привести pH розчину до 6.0. У випадку, коли pH розчину лактату хітозану був нижче 5,5, гелі в суміші з полівінілпірролідоном не утворювалися. При одержанні гелю в 20 мас.% розчин полівінілпірролідону, попередньо підданий термообробці, вводився гліцерин (для досягнення концентрації в розчині 10 об.%), і далі змішується з 1,5 мас.% розчином лактату хітозану із pH 6,0 при інтенсивному перемішуванні для одержання однорідної суміші. При певному співвідношенні ПВП/хітозан суміш цих двох компонентів швидко утворює сильно набухлий у воді гель. Співвідношення ПВП/хітозан становило

5/1, у цьому випадку гелеутворення протікає досить швидко – протягом 3 – 5 хвилин. Загальна концентрація полімеру, а також співвідношення двох полімерних компонентів, з яких виходить гель, впливають на консистенцію гелю, який стає м'якіше при більш низьких концентраціях.

Результати та обговорення. Розроблена технологія отримання плівок з лактату хітозану в присутності ДМСО. Концентрацію лактату хітозану в суміші змінювали від 1 до 2 мас.% Концентрація ДМСО в розчині також змінювалася до 30 об.%. Концентрація гліцерину становила – 10 об.%. Плівки сушили в грубці при 50^0С. Було встановлено, що плівки на основі лактату хітозану із ДМСО показали здатність значно набухати у фізіологічному розчині до 92,3%. З ростом концентрації ДМСО набухання збільшується, а зі зменшенням концентрації хітозану – трохи зменшується [5]. Однак міцність набухлих плівок виявляється недостатньою, для збереження їх цілісності, тому було пропоновано наносити таке покриття на підкладенку для посилення міцності шару. Плівки на основі лактату хітозану із ДМСО при концентраціях останнього вище 5 об.% стають нерозчинними.

Р*озроблені умови синтезу розчинів для покриття, технологічні прийоми виготовлення зразків ранозахисних, лікувально-активних композиційних матеріалів з активаторами ранозаживлення і захисту ран.* Отримані гелі сушили на скляній підкладинці на повітрі при 25 – 30^0С, а також у грубці при 60^0С [6]. У результаті були отримані гнучкі, еластичні, напівпрозорі гелеві плівки, що злегка прилипають. Слід зазначити, що при формуванні гелю при його перемішуванні попадали пухирці повітря, які не видаляються при звичайному сушінні, і впливають на міцністні характеристики гелевої плівки. Тому було запропоновано проводити сушіння у вакуумі. Отримані аплікації з полімерним біологічно активним покриттям володіють комплексною сорбційною, протеолітичною та репараційною дією, а також проводять захист від інфекцій.

Висновки. Розроблені гелі можуть бути використані як носії широкого спектра корисних біологічно активних речовин, що мають ранозаживляючі властивості. *Отримані зразки ранозахисних гелевих покриттів пов'язок та аплікацій на різній тканинній основі з покриттям хітозановим композитом.*

Список використаної літератури:

1. Абаєв Ю.К. Раневі пов'язки в хірургі**ї.** // Медичні новини. – 2003. – №12. – С. 30-37.
2. Kim B-S, Mooney DJ. Development of biocompatible synthetic extracellular matrices for tissue engineering. Trends Biotechnol 1998;16:224–30.
3. Khor E, Lim L. Implantable applications of chitin and chitosan. Biomaterials. 2003; 24:2339–2349.
4. Соломко Н.Ю., І.А. Дронь, О.Г. Будішевська, С.А. Воронов. Створення гідрогелів на основі пероксихітозану з первинно-третинними пероксидними фрагментами для медичного застосування. Львів, НУ "Львівська політехніка", 2008.- С. 156-162.
5. Волкова Н.М., Добриднев В.А. Патент України № 56592 (2011) «Спосіб виготовлення плівкового покриття на основі кополімерів хітозану, полівинилового спирту та метилцелюлози для модифікації сітчатих ендопротезів».
6. Волкова Н.Н., Добриднєв А.В., Коваль А.Ю., Структурні і хімічні характеристики поверхні полисахаридного плівкового покриття, модифіковані хітозансульфат-декстрановим нанокомпозитом.// Електронна мікроскопія та прочність матеріалів. Зб. наук. праць. Інститут проблем матеріалознавства ім. І.Н. Францевича НАН України. 2011, С. 121-126.

ВПЛИВ КОНКУРЕНТНИХ ГРАМНЕГАТИВНИХ БАКТЕРІЙ НА ЗДАТНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 РУЙНУВАТИ БАКТЕРІАЛЬНІ БІОПЛІВКИ

Благодир Д. О.
Національний університет харчових технологій, Київ, Україна
dasha.blagodir@gmail.com

Вступ. На сьогодні встановлено, що майже усі досліджені види бактерій утворюють біоплівки, які характеризуються високою небезпекою, оскільки понад 80 % хронічних захворювань і близько 60 % усіх внутрішньо лікарняних інфекцій спричиняються мікроорганізмами у складі біоплівок, які можуть формуватися наприклад, на медичних приладах (імплантатах, катетерах) [1]. Тому актуальним є пошук нових сполук природного походження, які можуть бути ефективними деструкторами бактеріальних біоплівок [2]. Одними з таких перспективних біоцидів є мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР). З літератури відомо про можливість регуляції біологічної активності мікробних вторинних метаболітів внесенням у середовище культивування продуцента цільового продукту так званих біологічних індукторів (конкурентних мікроорганізмів), у відповідь на наявність яких підвищується синтез та/або антимікробна активність цільового продукту [3].

Раніше було встановлено, що за наявності конкурентних грамнегативних бактерій *Enterobacter cloacae* C-8 у середовищі культивування *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 спостерігали підвищення антимікробної активності синтезованих поверхнево-активних речовин порівняно з препаратами, утвореними без даного індуктора. Оскільки одним із механізмів деструкції біоплівок за дії мікробних ПАР є їх антимікробна активність, припустили, що внесення біологічних індукторів у середовище культивування продуцента поверхнево-активних речовин буде супроводжуватися синтезом ПАР з підвищеною здатністю до руйнування бактеріальних біоплівок.

Мета дослідження. Дослідити здатність поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності у середовищі культивування грамнегативних бактерій *E. cloacae* C-8, руйнувати бактеріальні біоплівки.

Методи дослідження. Культивування штаму IMB B-7241 здійснювали у рідкому мінеральному середовищі з гліцерином (3 %, об'ємна частка) за наявності живих або інактивованих клітин *E. cloacae* C-8, або відповідного супернатанту. Як джерело вуглецю для вирощування *E. cloacae* C-8 використовували глюкозу (5 г/л). Суспензію живих клітин *E. cloacae* C-8 і супернатант вносили у середовище культивування продуцента ПАР у кількості 2,5 %, інактивовані автоклавуванням клітини – 10 % від об'єму середовища. ПАР екстрагували з супернатанту культуральної рідини сумішшю хлороформу і метанолу (2:1). Ступінь руйнування біоплівки (%) визначали як різницю між адгезією клітин бактеріальних тест-культур у необроблених і оброблених ПАР лунках імунологічного планшету.

Основні результати. Встановлено, що ступінь руйнування біоплівок *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1 та *Pseudomonas* sp. MI-2 під впливом ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності супернатанту, був на 13-25 % вищим, ніж у разі використання поверхнево-активних речовин, одержаних у середовищі без індуктора, причому найвищий ступінь руйнування біоплівки (80-84 %) спостерігався для тест-культур *Pseudomonas* sp. MI-2 та *E. coli* ІЕМ-1 (див. таблицю).

Таблиця. Деструкція бактеріальних біоплівок під впливом ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності конкурентних бактерій *E. cloacae* C-8

Біологічний індуктор	**Руйнування біоплівки, %**			
	***Escherichia coli* ІЕМ-1**	***Bacillus subtilis* БТ-2 (спори)**	***Staphylococcus aureus* БМС-1**	***Pseudomonas* sp. MI-2**
Контроль (без індуктора)	60	61	43	55
Живі клітини	74	59	69	74
Інактивовані клітини	58	63	68	70
Супернатант	84	74	62	80

Примітка. Концентрація ПАР у розчинах становила 640 мкг/мл. Під час визначення ступеня руйнування біоплівки похибка не перевищувала 5%.

У разі використання ПАР, утворюваних за наявності живих та інактивованих клітин індуктора, відсоток руйнування біоплівок *E. coli* ІЕМ-1 та *Pseudomonas* sp. MI-2 перебував на рівні 58-74 %, у той же час як у разі використання ПАР, одержаних у середовищі без індукторів становив 60 і 55 % відповідно. Внесення ж у середовище культивування продуцента ПАР інактивованих клітин *E. cloacae* C-8, супроводжувалося утворенням ПАР, за дії яких ступінь руйнування біоплівок грампозитивних бактерій *B. subtilis* БТ-2 та *S. aureus* БМС-1 досягав 63-68 %, і був вищим на 2-25 % порівняно з деструкцією за дії препаратів, одержаних без індуктора (див. таблицю).

Висновки. Таким чином, отримані результати свідчать про можливість підвищення ступеня руйнування бактеріальних біоплівок під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності у середовищі культивування продуцента конкурентних грамнегативних бактерій *E. cloacae* C-8.

Список використаної літератури:

1. Ciofu O., Rojo-Molinero E., Macià M. D., Oliver A. Antibiotic treatment of biofilm infections. APMIS. 2017, 125 (4): 304-319.

2. Maganaa M., Seretia C., Ioannidisa A., Mitchell C. A., Balle A. R., Magiorkinis E., etc. Options and limitations in clinical investigation of bacterial biofilms. Clin. Microbiol. Rev. 2018, 31(3). pii: e00084-16. doi: 10.1128/CMR.00084-16.

3. Hifnawy S. M., Hassan H. M., Mohammed R., Fouda M. M., Sayed A. M., Hamed A. A., etc. Induction of antibacterial metabolites by co-cultivation of two red-sea-sponge-associated *Actinomycetes Micromonospora* sp. UR56 and *Actinokinespora* sp. EG49. Marine Drugs. 2020, 18 (5): 243.

СКЛАД ЕФІРНОЇ ОЛІЇ, ЩО СИНТЕЗУЄТЬСЯ ПРОДУЦЕНТОМ РИБОФЛАВІНУ *EREMOTHECIUM ASHBYI*

Богацький О.В., Поліщук В.Ю.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, sasha.bagackiy@gmail.com

Вступ. Попит на ефірні олії постійно зростає завдяки розвитку фармацевтичної, косметичної та парфумерної галузі. Проте традиційний спосіб отримання таких олій не може задовольнити всі потреби людства [1].

Особливий інтерес, як нетрадиційних джерел ефірних олій, представляють мікроорганізми (бактерії, актиноміцети, гриби, дріжджі), здатні синтезувати ці речовини *de novo*. Найбільш перспективними з метою отримання ефірних олій і летючих запашних з'єднань з різноманітними напрямками запаху є грибні культури, які відносяться до базидіоміцетів і аскоміцетів, в тому числі дріжджі.

До речовин, що мають аромат троянди відносяться фенілетиловий спирт, цитронеллол, гераніол, нерол та деякі інші.

Таблиця 1. Мікроорганізми продуценти ефірних олій з ароматом троянди [2]

Мікроорганізм	Склад ефірної олії
Ambrosiozyma cicatricosa	гераніол, цитронеллол, ліналоол, нерол, β-фенілетанол, α-терпінеол, цитраль
Ceratocystis fimbriata	ліналоол, цитронеллол, гераніол, α-терпінеол
Eremothecium ashbyi	гераніол, цитронеллол, нерол, ліналоол, β-фенілетанол, цитраль, фарнезол
Eremothecium gossypii	гераніол, цитронеллол, нерол, ліналоол, β-фенілетанол, цитраль, фарнезол
Kluyveromyces lactis	цитронелол, гераніол, ліналоол, β-фенілетанол, ефіри
Mycena pura	цитронелол
Saccharomyces sp.	β-фенілетанол
Trichothecium roseum	нерол, ліналоол, цитронеллол, терпінеол, неролідол, ліналілацетат, цитронеллілацетат, геранілацетат,

Особливу увагу звертають на себе гриби роду *Eremothecium*, оскільки, крім синтезу ефірної олії, вони здатні до понадсинтезу такого цінного вітаміну як рибофлавін [3-5].

У дослідженнях Semenova E. зазначено, що до складу ефірної олії з грибів роду *Eremothecium* входять: β-фенілетанол (20–57 %), гераніол (31–81 %), цитронеллол (2,5–11 %), нерол (1,1–6,8 %) [6-8].

Іншими дослідниками за допомогою газової хромато-мас-спектрометрії (GC-MS) було виявлено, що до складу ефірної олії, виділеної з *Eremothecium ashbyii* H4565, входять: гераніол (36,46%), цитронелол (33,47%), фенілетиловий спирт (5,35%), лонгіфолен (5,24%), ліналоол (4,19%) та неролідол (4,15%) [9].

Метою нашої роботи було дослідження складу ефірної олії, що продукується *Eremothecium ashbyi* Guillierm. F-340.

Матеріали та методи. Об’єктом дослідження був штам *Eremothecium ashbyi* Guillierm. F-340 (таксономічне положення відповідно до міжнародної бази систематики грибів CABI Bioscience та бази даних CBS Database of Fungal Names

Fungi, Ascomycota, Saccharomycotina, Saccharomycetes, Saccharomycetidae, Saccharomycetales, Eremotheciaceae) та його здатність до синтезу ефірної олії.

Штам гриба зберігався при кімнатній температурі на середовищі складу (у %): глюкоза – 1,0; пептон – 0,3; дріжджовий екстракт – 0,5; агар – 2,0. Відновлювали на середовищі такого ж складу.

Культивування гриба відбувалось на рідкому глюкозо-пептонному середовищі за температури 28°С протягом 7 діб при постійному перемішуванні 180 об/хв на орбітальних шейкерах в конічних колбах на 250 мл, заповнених на 1/5 об'єму.

Екстракція ефірної олії здійснювалась гексаном. Фракція гексану відділялась від водної фракції та біомаси за допомогою ділильної воронки. Гексан випаровували за допомогою роторного випаровувача IKA RV 05 Basic. Отриманий залишок аналізували за допомогою рідинної хромато-мас-спектрометрії та газової хромато-мас-спектрометрії (LCMS- та GCMS-прилади виробництва Agillent).

Результати та обговорення.

Найбільш цінною та затребуваною ефірною олією троянди є олія болгарського виробництва, яка містить незначну кількість фенілетилового спирту (менше 3,5 %), за рахунок цього в ній збільшується кількість монотерпенових спиртів.

Аналіз ефірної олії, виділеної з *E.ashbyi* F-340 за допомогою GCMS (рис.1) показав, що найбільше у складі ефірної олії гераніола – 49,9% (5,687), трохи менше лонгіфолена – 36,5% (10,983), фенілетилового спирту – 2,2% (5,467) та незначні кількості ліналоола та неролідола. На даному спектрі відсутній моль-іон цитронелола.

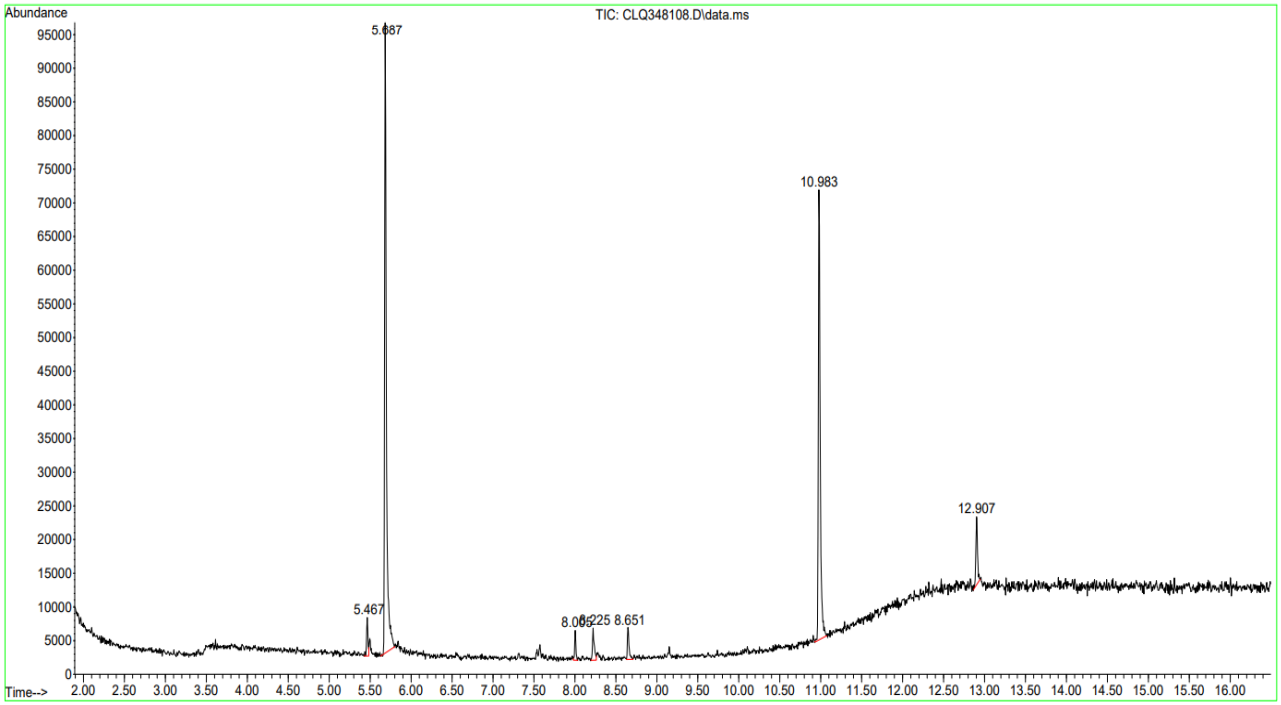


Рис.1. Газова хромато-мас-спектрометрія (GCMS) ефірної олії з *Eremothecium ashbyi*

Отриманий LCMS-спектр відповідає даним GCMS. Проте на ньому додатково ще можна побачити незначний слід цитронелола. Незначний вміст фенілетилового спирту (2,2%) відповідає міжнародному стандарту ISO 9842:2003 «Rose Oil», майже 50% олії складає монотерпеновий спирт гераніол і 36% - сесквітерпен лонгіфолен. Наявність лонгіфолену у складі ефірної олії *E.ashbyi* також підтверджується в досліджені [9], але у значно меншій кількості.

Отже, склад отриманої ефірної олії з аскоміцету *E. ashbyi* F-340 відрізняється від складу еремотецієвої ефірної олії, отриманої іншими дослідниками [6-9]. Перевагою отриманої олії є високий вміст найціннішого компонента ефірної олії – гераніолу, що робить перспективним подальші дослідження біосинтетичної здатності штаму-продуценту.

Висновки. В даній роботі було проаналізовано можливість отримувати ефірну олію з ароматом троянди, як побічний продукт синтезу рибофлавіну, за допомогою *Eremothecium ashbyi* F-340. Встановлено склад ефірної олії: гераніол – 49,9%, лонгіфолен – 36,5%, фенілетиловий спирт – 2,2% та незначні кількості ліналоола та неролідола.

Список використаної літератури:

1. Гуринович Л.К., Пучкова Т.В. Эфирные масла: химия, технология, анализ и применение. — М.: Школа косметических химиков, 2005. — 192 с.
2. Production of flavours by microorganisms / Janssens L., De Pooter H.L., Schamp N.M., Vandamme E.J. // Process Biochemistry. – 1992. – Vol. 27. – P. 195–215.
3. You, J., Pan, X., Yang, C., Du, Y., Osire, T., Yang, T., Rao, Z. (2021). Microbial production of riboflavin: Biotechnological advances and perspectives. Metabolic Engineering, 68, 46–58. https://doi.org/10.1016/j.ymben.2021.08.009
4. Improved riboflavin production by *Eremothecium ashbyii* using glucose and yeast extract / Xin Cheng, Jia Zhou, Lin Huang, Kun-tai Li // African Journal of Biotechnology. – 2011. – 10, № 70. – P. 15777–15782. https://doi.org/10.5897/ajb11.986
5. Zhang, J.-R., Ge, Y.-Y., Liu, P.-H., Wu, D.-T., Liu, H.-Y., Li, H.-B. Gan, R.-Y. (2021). Biotechnological Strategies of Riboflavin Biosynthesis in Microbes. Engineering. https://doi.org/10.1016/j.eng.2021.03.018
6. Semenova E. F. About essential oils biotechnology on the base of microbial synthesis / E. F. Semenova, A. I. Shpichka, I. Ya. Moiseeva // European Journal Of Natural History. – 2012. – № 4. – P. 29–31.
7. Semenova E. F. About explanation of elaboration of essential *Eremothecium* oil biotechnology / E. F. Semenova, A. I. Shpichka, I. Ya. Moiseeva // International journal of experimental education. – 2012. – № 3. – P. 35–36.
8. Semenova E. F. Some pharmbiotechnological characteristics of *Eremothecium*, producer of ribofl avin and essential oil / E. F. Semenova, A. I. Shpichka // International journal of applied and fundamental research. – 2012. – № 1. – P. 170–172.
9. He, F., Li, K., Zhang, X., Yang, Y., Fang, Y., Xiang, F., Components and antibacterial activity of a novel essential oil from the nutrient broth of *Eremothecium ashbyii* H4565 // LWT - Food Science and Technology. – 2019. - № 101. – P. 389-394. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.037

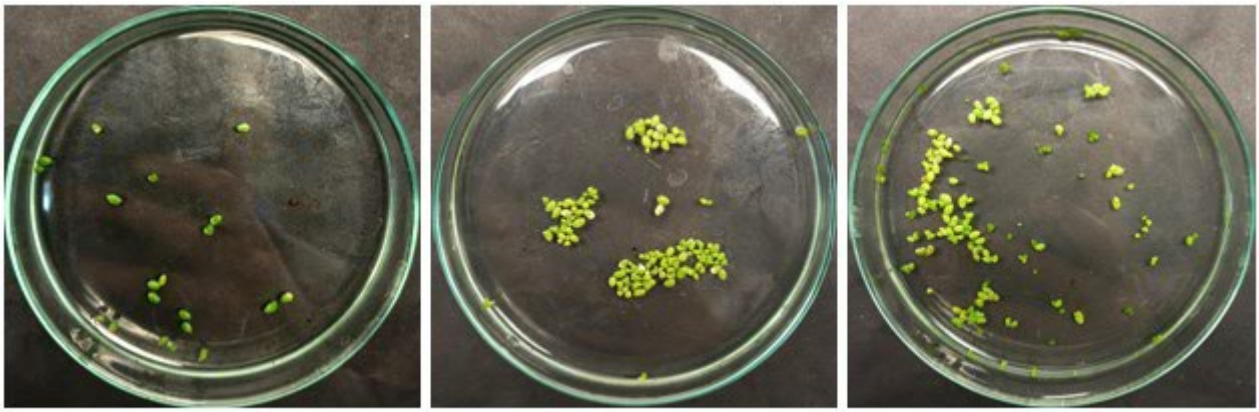
ОЦІНКА БІОБЕЗПЕЧНОСТІ ФЛАВОНОЇДВМІСНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ «БОРОДАТИХ» КОРЕНІВ *ARTEMISIA TILESII* LEDEB

Богданович Т. А., Матвєєва Н. А.
Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,
bogdanovych_tais@ukr.net

Вступ. Препарати та флавоноїдвмісні композиції, виготовлені з екстрактів «бородатих» коренів лікарських рослин, можуть мати цілий спектр біологічних активностей: антиоксидантну, протизапальну, ранозагоювальну, протимікробну та противірусну. Задля їх безпечного використання необхідно провести оцінку біобезпечності отриманих екстрактів. Одним із об'єктів такої перевірки може слугувати ряска *Lemna minor* L., адже ця рослина здавна використовується як індикатор токсичності стічних [1] та поверхневих [2] вод, а також використовується у лабораторіях як один із можливих методів перевірки токсичності різних сполук [3].

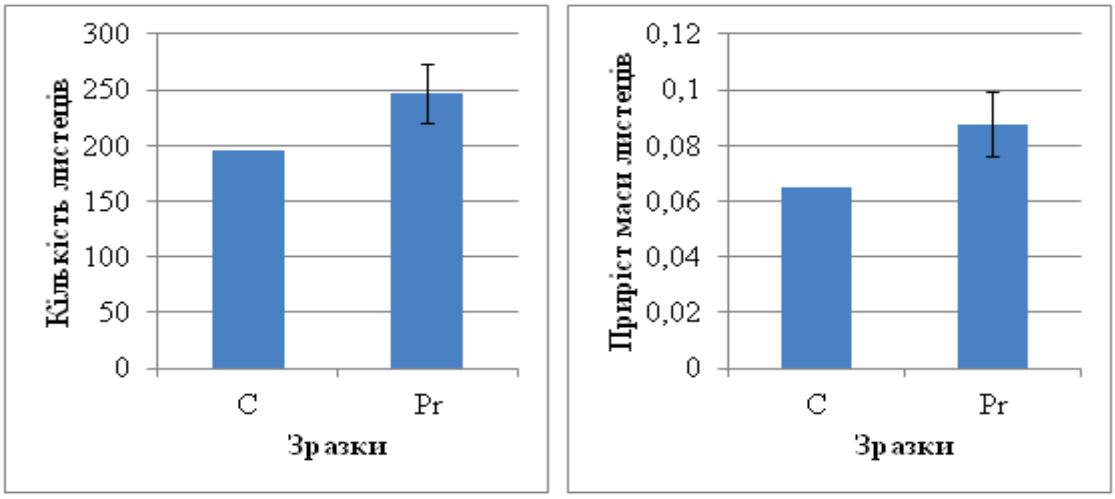
Матеріали та методи. Перевіряли на біобезпечність попередньо отриману флавоноїдвмісну композицію, що була приготована з сухого етанольного екстракту ліофілізованих «бородатих» коренів полину Тілесіуса. Культура ряски малої була взята з *in vitro* колекції рослин ліборатоpії адаптаційної біотехнології Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. Сухий етанольний екстракт «бородатих» коренів *Artemisia tilesii* Ledeb. розчиняли у 70% етанолі (50 мг в 1 мл). Відбирали по 20 листецiв ряски у кожну чашку Петрі (контроль та повторності з препаратом); додавали по 20 мл рідкого середовища Мурасіге-Скуга з половинним вмістом макросолей та сахарозою у концентрації 30 г/л; у контрольну чашку додавали 100 мкл 70% етанолу, а у інші чашки – по 100 мкл приготованого етанольного розчину препарату; культивали 3 тижні при температурі +24°С та освітленні 16 год.

Результати та обговорення. Через 3 тижні культивування було проведено оцінку біобезпечності попередньо отриманої флавоноїдвмісної композиції на основі екстракту «бородатих» коренів полину шляхом визначення кількості листецiв ряски та приросту їх маси (рис. 1 та 2). Перед культивуванням у кожній чашці було по 20 шт. листецiв масою 0.018 ± 0.001 г. Через 3 тижні культивування у контрольній чашці кількість листецiв становила 196 шт., а у чашках з препаратом 246.33 ± 26.16 шт., що на 25.68% більше. Так само і маса листецiв збільшилась у порівнянні з контролем: 0.065 г у контрольній чашці та 0.088 г у чашках з препаратом, що на 35.50% більше. Такі результати свідчать про нетоксичність та біобезпечність препарату для рослин, адже кількість листецiв та їх маса не стали з часом меншими, ніж у котрольному зразку, у жодній повторності. Більше того, ріст ряски малої був активнішим у чашках з доданим препаратом. Таким чином, окрім нетоксичності, показано позитивну дію отриманого комплексу сполук на основі сухого етанольного екстракту «бородатих» коренів полину на ріст та накопичення біомаси ряски.



a *b* *c*

Рис. 1. Рослини ряски *Lemna minor* перед початком культивування (*a*) та через три тижні культивування з 100 мкл 70% етанолу (*b*) та з 100 мкл етанольного розчину флавоноїдвмісної композиції на основі «бородатих» коренів *Artemisia tilesii* (*c*).



a *b*

Рис. 2. Кількість (*a*) та маса (*b*) листецв ряски *L. minor* після 3 тижнів культивування: з 100 мкл 70% етанолу (контроль, C) та з 100 мкл етанольного розчину флавоноїдвмісної композиції на основі «бородатих» коренів *A. tilesii* (препарат, Pr).

Висновки. Результати дослідження свідчать про відсутність токсичності флавоноїдвмісної композиції на основі екстракту «бородатих» коренів полину Тілесіуса. Ця композиція є біобезпечною та може бути використана як основа для розроблення лікарських засобів, що містять біофлавоноїди.

Список використаної літератури:

1. Zaltauskaite J., Sujetoviene G., Čypaitė A., Aužbikavičiūt A. *Lemna minor* as a tool for wastewater toxicity assessment and pollutants removal agent. Vilnius Gediminas Technical University Press Technika. 2014. https://doi.org/10.3846/enviro.2014.104.

2. Radić S., Stipaničev D., Cvjetko, P., Rajčić M., Širac S., Pevalek-Kozlina B., Pavlica M. Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2011. Vol.74. P.182–187. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.06.011.

3. Park J., Yoo E. J., Shin K., Depuydt S., Li W., Appenroth K. J., Lillicrap A. D., Xie L., Lee H., Kim G., Saeger J., Choi S., Kim G., Brown M. T., Han T. Interlaboratory Validation of Toxicity Testing Using the Duckweed *Lemna minor* Root-Regrowth Test. Biology. 2021. Vol.11, No 1. P.37. https://doi.org/10.3390/biology11010037

ВПЛИВ ДОЩОВИХ ЧЕРВ'ЯКІВ НА МІКРОБНУ ПОПУЛЯЦІЮ У ПРОЦЕСАХ ВЕРМИКОМПОСТУВАННЯ

Бондаренко Б.О., Жукова В.С.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, bohdan.bond@gmail.com

Вступ. В останні роки вермикомпостування набуло популярності серед господарств та харчових підприємств завдяки своїй здатності продукувати високоякісний компост і зменшувати кількість відходів, які потрапляють на звалища. У той час як дощові черв'яки є найбільш помітними учасниками процесу вермикомпостування, мікробна популяція має не менш важливе значення, а саме забезпечує розкладання складних органічних сполук [1].

Метою даної роботи є аналіз взаємодії мікробних популяцій та дощових черв'яків під час процесу вермикомпостування для вивчення методів підвищення якості компосту.

Результати та обговорення. Дощові черв'яки можуть мати нейтральний, шкідливий або позитивний вплив на різноманітність екосистеми, залежно від виду дощового черв'яка та мікросередовища, у якому він присутній. Дощові черв'яки подрібнюють субстрат, тим самим збільшуючи площу поверхні для мікробної деградації, що становить активну фазу вермикомпостування. Коли ця подрібнена органічна речовина проходить через кишечник черв'яка, вона змішується з асоційованими з кишечником бактеріями і травними ферментами та залишає кишечник у частково перетравленій формі у вигляді зліпків. Після чого настає фаза дозрівання, яка включає дію асоційованих мікробів і відбувається, коли черв'як переміщується до більш свіжих шарів неперетравленого субстрату [2].

Комплексний вплив дощових черв'яків на мікроорганізми базується на наступних принципах: дощові черв'яки можуть заковтувати і перетравлювати різні типи мікроорганізмів; можуть вибірково пригнічувати або активувати певні ґрунтові мікроорганізми в кишечнику, завдяки наявності тих чи інших харчових ресурсів. Таким чином, активність деяких популяцій бактерій може підвищуватись, тоді як інших залишатись незмінними або перетравлюватись, внаслідок чого буде зменшуватись їх кількість. Загалом, за допомогою PCR-DGGE аналізу було виявлено близько 57 різних видів бактерій. Метод передбачає виділення ДНК із зразків ґрунту, ампліфікацію гена бактеріальної 16S рРНК за допомогою ПЛР, а потім розділення отриманих фрагментів ДНК за допомогою денатуруючого градієнтного гель-електрофорезу [3].

Подальша мікробна активність, у готовому вермикомпості підвищується, шляхом кращої доступності кисню, регулювання температури ґрунту, покращення пористості та інфільтрації. Дощові черв'яки виконують важливі функції, утворюючи агрегати та отвори (біоструктуру) для забезпечення ґрунту поживними речовинами (N, K і Ca). В результаті підвищеного перенесення органічного вуглецю та азоту, вермикомпост є потужним стимулятором мікробної активності, що призводить до фіксації азоту в протеогліканах, тим самим запобігаючи вимиванню азоту в ґрунт і зменшуючи співвідношення C/N [1] . Було вивчено комбінований вплив утвореного компосту на ризобактерії, які сприяють росту рослин (група PGPR). Ця специфічна група бактерій стимулює

ріст рослин безпосередньо шляхом солюбілізації поживних речовин, виробництва гормону росту 1-аміноциклопропан-1-карбоксилат дезамінази, фіксації азоту і, опосередковано, шляхом пригнічення грибкових патогенів. Висновки демонструють, що компост посилює позитивний вплив на PGPR, а у подальшому на ґрунт і рослини [4].

Виділені цинкорозчинні бактерії (ZSB) з компосту показали численні властивості, що сприяють росту плодових рослин. Після скринінгу ізолятів з компосту були отримані значні рівні солюбілізації Zn (26,8 мг L-1) і вмісту Zn (2,87 мг/100 г) у плодах, що підкреслює потенціал цих бактеріальних ізолятів для забезпечення достатньої доступності цинку для кращого росту рослин у сталий спосіб [1].

Характеристика та кількісне визначення ферментативної активності має пряму кореляцію з типом і популяцією мікробів і відображає динаміку процесу верми9компостування з точки зору розкладання органічної речовини та перетворення азоту та надає інформацію про зрілість компосту. Дегідрогенази є внутрішньоклітинними ферментами, пов'язаним з процесом окисного фосфорилювання і є індикаторами мікробної активності в ґрунті. Максимальна активність ферментів (целюлази, амілази, інвертази, протеази та уреази) спостерігалася протягом 21–35 днів при вермикомпостуванні та на 42–49 днях при традиційному компостуванні. Крім того, кількість мікробів і профілі їхніх позаклітинних ферментів були більш поширеними у біогумусі, порівняно зі звичайним компостом того самого походження [4].

Висновки. Розуміння ролі мікробного складу та їх взаємодії з дощовими черв'яками може допомогти оптимізувати процес вермикомпостування, визначивши ключові види мікроорганізмів, а також допомогти розробити більш ефективні стратегії використання вермикомпосту як добавки до ґрунту, гарантуючи, що компост багатий корисними мікроорганізмами, які сприяють росту рослин і здоров'ю ґрунту [3]. Збільшення мікробної популяції може бути наслідком сприятливих умов для росту мікробів у травному тракті дощового черв'яка та вживанням багатих поживними речовинами органічних відходів, які забезпечують енергією, а також діють як субстрат для росту мікроорганізмів.

Список використаної літератури:

1. Rehman, S.u.; De Castro, F.; Aprile, A.; Benedetti, M.; Fanizzi, F.P. Vermicompost: Enhancing Plant Growth and Combating Abiotic and Biotic Stress. Agronomy 2023, 13, 1134. URL: https://doi.org/10.3390/agronomy13041134

2. Hoeffner, K., Monard, C., Santonja, M., & Cluzeau, D. (2018). Feeding behaviour of epi-anecic earthworm species and their impacts on soil microbial communities. Soil Biology and Biochemistry, 125, 1–9. URL: http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.06.017

3. Ahmed, N.; Al-Mutairi, K.A. Earthworms Effect on Microbial Population and Soil Fertility as Well as Their Interaction with Agriculture Practices. Sustainability 2022, 14, 7803. URL: https://doi.org/10.3390/su14137803

4. Pathma, J., & Sakthivel, N. (2012). Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. SpringerPlus, 1, 26. URL: https://doi.org/10.1186/2193-1801-1-26

ЕНДОГЛЮКАНАЗНА АКТИВНІСТЬ БАЗИДІОМІЦЕТУ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* ЗА УМОВ ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

Ващук Н. Р., Ліновицька В. М.
Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», linovytska.vita@lll.kpi.ua

Вступ. Важливу групу речовин грибного походження, які можуть бути використані в різних галузях промисловості, становлять ферменти [1]. Нині сучасні виробництва широко застосовують ферментні препарати, отримані на основі бактерій та плісеневих грибів, натомість, потужні ферментні комплекси базидіальних лігнотрофних грибів використовуються дуже мало. Одним з об'єктів, який було б доцільно дослідити з цієї точки зору, є базидіоміцет *Schizophyllum commune*. Сучасна біотехнологія відчуває гостру нестачу активних продуцентів ензимів целюлозолітичної дії з метою їх використання у процесах промислової утилізації целюлозовмісних відходів [2-4].

Ендоглюканази, що виробляються дереворуйнуючими грибами, відіграють ключову роль у розкладанні лігноцелюлозних залишків рослин в природних умовах, а також є необхідними для утилізації важкогідролізуємих відходів агропромислового комплексу, деревопереробної, паперової та інш. промисловості. Тому одним з перспективних напрямків використання дереворуйнуючих грибів є їх застосування для виробництва біопалива з відходів лісового господарства та деревообробки. Використання ендоглюканаз в цьому процесі може значно підвищити ефективність перетворення біомаси в біопаливо та знизити витрати на виробництво [2, 5]. Отже, ендоглюканази, що виробляються дереворуйнуючими грибами, мають важливе значення для розкладу лігноцелюлозної біомаси та забезпечують перспективи для виробництва біопалива, біотехнологічної та біоремедіаційної промисловості.

Відомо, що ендоглюканази *Schizophyllum commune* мають високу активність та стабільність у кислому та нейтральному середовищах, що робить їх ефективними в умовах глибинного культивування [1]. При глибинному методі культивування для міцелію створюються одинакові умови (хімічні, фізичні), а механічне перемішування середовища і безперервна аерація сприяють росту міцелію і накопиченню продуктів обміну, скорочується термін ферментації та збільшується кількість одержуваного продукту. Тому є актуальним визначити і дослідити ферментативну ендоглюканазну активність базидієвого гриба *Schizophyllum commune*. Тому метою даного дослідження є визначення впливу складу рідких поживних середовищ на ферментативну активність ендоглюканази у штаму *S. commune*.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження був штам 1766 *Schizophyllum commune* з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України ІБК.

Ферментативну ендоглюканазну активність вивчали на рідкому синтетичному середовищі такого складу (г/дм^3): NH_4NO_3 – 3; $MgSO_4x3H_2O$ – 0,5; глюкоза – 30, в різні варіанти якого додавали пептон – 10 або бурякову мелясу –

10, або кукурудзяний екстракт – 10, або карбоксиметилцелюлозу - 10. Глибинне культивування проводили на орбітальному шейкері в умовах постійного перемішування (180 об/хв), в колбах Ерленмеєра на 250 мл, за температури 30 °С, протягом 5-7 діб, в трьох повторах.

Протягом культивування штаму на вищенаведених живильних середовищах було визначено активність ендо-1,4-β-глюканази (ЕС 3.2.1.4 ендо-1,4-β-D-глюканглюкогідролаза). Її визначали за рівнем утворення глюкози в інкубованій суміші з 0,3% карбоксиметилцелюлози (КМЦ-активність). Склад реакційних сумішей при визначенні ферментативної активності та умови проведення реакцій відповідали рекомендаціям IUPAC [7]. Кількість глюкози, що утворювалась у результаті дії ферменту, визначали фотометрично феріціанідним методом [8]. За одиницю ферментативної активності (IU) приймали утворення 1 мкмоль редукуючих цукрів протягом 1 хв за температури 40 °С при додаванні 1 мл культурального фільтрату. (IU/см^3, мкмоль/(хв×см^3)).

Результати та обговорення. В результаті проведеного глибинного культивування було визначено, що максимальне значення активності ендо-1,4-β-глюканази у штаму *S. commune* 1766 склало 0,167±0,014 IU/см^3 на синтетичному середовищі з карбоксиметилцелюлозою (5 доба культивування). При цьому на середовищі з мелясою ендо-1,4-β-глюканазна активність реєструвалалася також на схожому рівні 0,159±0,011 IU/см^3 .

Висновки. Отже, активність ендо-1,4-β-глюканази базидієвого гриба *S. commune* залежить від складу живильного середовища і потребує подальших досліджень. Вивчення ферментативної активності *S. commune* є важливим напрямком досліджень, що може дати нове уявлення про роль грибів у процесах біодеградації.

Список використаної літератури:

1. Ферментні системи вищих базидіоміцетів. Даниляк Н. І., Семичаєвський В. Д., Дудченко Л. Г., Трутнєва І. А. Київ : Наукова думка, 1989, 280 с.
2. Бойко С.М. Целюлази базидієвих грибів для розробки технологій біоконверсії клітковини. Український ботанічний журнал, 2020. 77(5): 378–385.
3. Древаль К. Г., Бойко М. І. Нові продуценти целюлозолітичних ензимів серед вищих базидіальних грибів // Біотехнологія. 2011. Т. 4, № 1. С. 87–92.
4. Древаль К. Г., Бойко М. І. Целюлази з культуральної рідини базидіоміцетів. Біотехнологія. 2013. Vol. 6, № 2. С. 107-114. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/biot_2013_6_2_14
5. Shapiro T. H. America's Energy Future: Technology and Transformation. — Washington: The National Academies Press, 2009. 650 p.
6. Бухало А.С., Дуган О.М., Максимюк М.Р., Ліновицька В.М. Ферментативна активність вищого базидіального гриба *Schizophyllum commune. Вісник Національного авіаційного університету*. 2012. № 3. С. 154-159.
7. Ghose T.K. Measurement of cellulase activity. Pure and Applied Chemistry, 1987. 59(2): 257–268. https://doi.org/10.1351/pac198759020257
8. Скуратовская О. Д. Контроль качества продукции физико-химическими методами. 3. Сахар и сахарные кондитерские изделия. 2-е изд. перераб. и доп. М.: ДеЛи принт, 2005. 124 с.

ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ СКВАШЕНИХ НАПОЇВ НА ОСНОВІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Власенко К.М., Кузнецова О.В., Рибак О.
ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», ekaterina.udhtu@gmail.com

Вступ. В останні роки спостерігається тенденція до збільшення споживання рослинного «молока». Для пояснення цього існує декілька причин. По-перше, такі напої можна споживати людям із непереносимістю лактози, які за станом здоров'я не можуть використовувати у харчуванні тваринне молоко. По-друге, рослинні напої мають низький вміст цукру і жиру, тому є популярними у раціонах дієтичного харчування. По-третє, рослинному молоку віддають перевагу люди, які взагалі або тимчасово не вживають тваринних продуктів – вегетаріанці, вегани, сироїди і ті, хто дотримується посту. Також на думку деяких дієтологів рослинні продукти краще засвоюються та не мають шкідливих гормонів і антибіотиків, які можуть міститися в продуктах тваринного походження [1].

До молочних напоїв на рослинній основі відносять продукти переробки рослинної сировини – сої, мигдалю, кокосу, вівса, рису та інших зернових. Такі молокоподібні продукти імітують смак, консистенцію, колір молочних напоїв. Тому їх можливо використовувати як замінник тваринного молока, використовувати безпосередньо у харчуванні як напій або готувати кулінарні страви на їхній основі [2].

Варто зазначити, що молоко тваринного походження – не лише цінний поживний продукт, а ще й ідеальна сировина для виготовлення кисломолочних продуктів, в яких під час ферментації молока молочнокислими бактеріями утворюється молочна та інші кислоти, вітаміни, антибіотичні речовини. Це обумовлює корисні властивості кисломолочних продуктів для здоров'я людини.

При відмові від використання у раціоні харчування тваринного молока на користь рослинних аналогів постає питання придатності до сквашування рослинного молока. Тому метою проведеного дослідження було створення сквашених продуктів на основі рослинних замінників молока та оцінка їхньої якості.

Матеріали та методи. Для проведення дослідження використовували напій ультрапастеризований вівсяний ТМ GREEN SMILE (Україна); напій соєвий ультрапастеризований ТМ Vega Milk (Україна); кокосовий напій ТМ Body&Future (Словаччина). Контрольним варіантом було молоко коров'яче питне пастеризоване, 2,5 % жиру ТМ «Своя лінія» (Україна).

Перед сквашуванням визначали титровану кислотність вихідної сировини [3].

Виготовлення сквашеного продукту здійснювали з використанням сухої бактеріальної закваски «Йогурт VIVO», ТМ VIVO (Україна), до складу заквашувальних культур якої входять молочнокислі бактерії *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*.

Сквашування проводили у термостаті за температури 40 ± 2 ºС протягом 10 годин. Готові продукти охолоджували та проводили органолептичний аналіз відповідно до ДСТУ 4343:2004 Йогурти. Загальні технічні умови.

Визначали титровану кислотність готових продуктів відповідно до ДСТУ ISO 11869:2007 Йогурт. Визначення титрованої кислотності потенціометричним методом.

Результати визначення титрованої кислотності обробили статистично і представили у вигляді M ± m.

Результати та обговорення. При проведенні дослідження було отримано чотири зразки йогурту: традиційний, з коров'ячого молока (рис. 1, а) та три зразки йогурту на основі рослинної сировини: вівсяного (рис. 1, б), соєвого (рис. 1, в) та кокосового (рис. 1, г) молока.

а **б** **в** **г**

Рис. 1. Зразки йогурту на основі різної сировини: молока коровячого (а), рослинних напоїв: вівсяного (б), соєвого (в) та кокосового (г)

Результати проведеного органолептичного аналізу отриманих зразків йогуртів приведені у таблиці 1.

Таблиця 1. Органолептичні показників зразків йогуртів на основі різної сировини

Назва показника	Сировина для виготовлення йогурту			
	Коров'яче молоко	Вівсяне молоко	Соєве молоко	Кокосове молоко
Смак	Кисло-солодкий, властивий йогурту	Солодкуватий, маслянистий, вівсяний, з кислуватим післясмаком	Кисло-солодкий, з фруктовими нотами	Кокосовий, з кислуватим післясмаком
Запах	Кисломолочний	Слабо виражений, кисломолочний	Слабо виражений, кисломолочний, фруктовий	Слабо виражений, кокосовий
Консистенція	Щільна, згусток з чіткими краями	Рідка, згусток не сформований, значне виділення сироватки	М'яка, згусток сформований, незначне відділення сироватки	Рідка, згусток не сформований
Колір	Світло-кремовий	Світло-сіро-жовтий	Кремовий	Білий

Відповідно до отриманих під час дослідження даних можна побачити, що серед використаних зразків рослинних замінників молока шляхом традиційного сквашування закваскою йогурт із сформованим згустком вдалося отримати тільки із соєвого молока. За своєю структурою він майже не відрізнявся від традиційного йогурту з коров'ячого молока, проте мав достатньо специфічний фруктовий присмак.

Із вівсяного та кокосового молока йогурт із типовою для нього консистенцією отримати не вдалося, що на нашу думку пояснюється низьким вмістом білка, який безпосередньо обумовлює формування згустку готового йогурту, як у вівсяному (1 г/100 мл), так і в кокосовому (0,1 г/100 мл) напоях.

Результати визначення титрованої кислотності вихідної сировини та йогуртів, виготовлених на її основі, наведені у таблиці 2.

Таблиця 2. Титрована кислотність вихідної сировини та йогуртів, виготовлених на її основі, °Т

Вид вихідної сировини	Титрована кислотність вихідної сировини	Титрована кислотність йогурту
Коров'яче молоко	18,2±0,2	92,7±0,4
Вівсяне молоко	6,3±0,8	44,8±0,7
Соєве молоко	13,5±0,4	67,0±0,7
Кокосове молоко	3,3±0,4	21,2±0,2

Враховуючи зміну кислотності вихідної сировини у процесі сквашування слід відзначити, що у кожному варіанті досліду відбулося молочнокисле бродіння із накопиченням у готовому продукті молочної кислоти, яке призвело до підвищення кислотності вихідної сировини. Для вівсяного та кокосового молока за проведений період сквашування кінцевий рівень кислотності досяг значно нижчого рівня, порівняно із контрольним зразком, що також можна вважати однією із причин відсутності сформованого згустку у готовому продукті.

Висновки. За результатами проведеного дослідження була показана можливість створення сквашених продуктів на основі рослинної сировини. Соєве молоко можна вважати альтернативним аналогом молоку тваринного походження для використання у якості сировини для виготовлення кисломолочних продуктів.

Список використаної літератури:

1. Мотузка Ю., Кошельник А. Ринок аналогів молочних продуктів рослинного походження: світові тренди. Товари і ринки. 2019. №3. С. 38-49.

2. Мерзлов С. В., Шурчкова Ю. О., Цебро А. Д., Гребельник О. П., Калініна Г. П., Роль Н. В. Фізико-хімічні та органолептичні показники рослинного молока, яке використовують у готельно-ресторанних комплексах. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Ґжицького. Серія: Харчові технології, 2021, Т. 23, № 96. С. 28-32.

3. Ясній В.П., Довбуш Т.А.. Лабораторний практикум з хімії і фізики молока і молочних продуктів. Тернопіль: Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, 2018. 182 с.

ІНТЕНСИФІКАЦІЯ СИНТЕЗУ ГІБЕРЕЛІНІВ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 ТА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMB Ac-5017 ЗА НАЯВНОСТІ ЕКЗОГЕННОГО ЕРИТРИТОЛУ

Воробей А.М.[1], Шевчук Т.А.[2], Леонова Н.О.[2]
[1] Національний університет харчових технологій, vorobei.anna.biotech@gmail.com
[2] Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Вступ. Раніше була встановлена здатність *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 та *Acinetobater calcoaceticus* IMB B-7241 до одночасного синтезу поверхнево-активних речовин (ПАР) та трьох класів фітогормонів (ауксинів, цитокінів, гіберелінів) [1]. Синтезованим ПАР притаманна висока антимікробна активність щодо фітопатогенних бактерій, що робить можливим одержання комплексного мікробного препарату з антибактеріальними та ріст-стимулювальнми властивостями для використання у рослинництві. Проте концентрація синтезованих гіберелінів є невисокою, що знижує ефективність використання препарату у сільському господарстві. Через це постає необхідність збільшити їх синтез, що може бути реалізовано шляхом внесення у середовище культивування попередника біосинтезу гіберелінів. Зважаючи, що синтез гіберелінів у більшості бактерій відбувається у метил-еритритол-4-фосфатному шляху [2], припустили, що їх попередником може бути один із інтермедіатів біосинтетичного шляху – еритритол.

Мета даної роботи − дослідження можливості інтенсифікації синтезу гіберелінів *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *A. calcoaceticus* IMB B-7241 у разі внесення у середовище культивування попередника їх біосинтезу.

Матеріали та методи. Культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 та *R. erythropolis* IMB Ac-5017 здійснювали у рідкому мінеральному середовищі з рафінованою соняшниковою олією (2%, об'ємна частка), в яке у лаг-фазі та на початку стаціонарної фази росту вносили еритритол (100-500 мг/л). Концентрацію гіберелінів визначали методом тонкошарової і високоефективної рідинної хроматографії, попередньо проекстрагувавши їх із супернатанту культуральної рідини етилацетатом при pH 2,5.

Результати та обговорення. Встановлено, що незалежно від моменту внесення еритритолу у середовище культивування як *R. erythropolis* IMB Ac-5017, так і *A. calcoaceticus* IMB B-7241 спостерігали підвищення концентрації синтезованих гіберелінів порівняно з показниками без еритритолу, проте максимальний синтез гіберелінів досягався у разі добавлення попередника на початку процесу культивування обох штамів. Дані, наведені у таблиці, свідчать про те, що рівень синтезу гіберелінів обома досліджуваними штамами залежав від кількості добавленого у середовище культивування еритритолу.

Табл. 1 Вплив еритритолу на синтез гіберелінів продуцентами поверхнево-активних речовин.

Концентрація еритритолу, мг/л	Концентрація гіберелінів (% до контролю), синтезованих штамом	
	Acinetobater calcoaceticus IMB B-7241	*Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017
100	161	110
200	**2032**	118
300	648	124
400	279	146
500	253	**367**

Примітки: Контроль (100 %) – концентрація гіберелінів, синтезованих у середовищі без еритритолу. Внесення еритритолу здійснювали у лаг-фазі.

Для *A. calcoaceticus* IMB B-7241 найбільш ефективною для максимального синтезу гіберелінів виявилася концентрація еритритолу 200 мг/л: за таких умов кількість фітогормонів збільшувалася на 2032% порівняно з показниками без попередника. Подальше підвищення концентрації еритритолу у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 до 500 мг/л супроводжувалося зниженням показників синтезу гіберелінів (див. таблицю). Інші, відмінні від *A. calcoaceticus* IMB B-7241, закономірності щодо впливу еритритолу на синтез фітогормонів гіберелової природи встановлені для *R. erythropolis* IMB Ac-5017. По-перше, спостерігалася прямо пропорційна залежність між концентрацією екзогенного еритритолу у середовищі культивування цього штаму і рівнем синтезу гіберелінів (у разі підвищення вмісту попередника від 100 до 500 мг/л кількість фітогормонів збільшувалася від 110 до 367 % порівняно з показниками без еритритолу). По-друге, максимальний синтез гіберелінів *R. erythropolis* IMB Ac-5017 досягався за наявності у середовищі 500 мг/л еритритолу. По-третє, добавлення еритритолу як попередника біосинтезу гіберелінів для *R. erythropolis* IMB Ac-5017 виявилося менш ефективним, ніж для *A.calcoaceticus* IMB B-7241 (збільшення концентрації фітогормонів на 2032 і 367 % відповідно). Разом з тим не виключено, що подальше підвищення вмісту еритритолу у середовищі культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 буде супроводжуватися інтенсифікацією синтезу гіберелінів. Виясненню цих питань будуть присвячені наші подальші дослідження.

Висновки. Отже, внесення еритритолу у середовище культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *A. calcoaceticus* IMB B-7241 дало змогу збільшити на кілька порядків концентрацію біологічно активних гіберелінів і підвищити таким чином ефективність використання екзометаболітів на основі цих штамів у сільському господарстві.

Список використаної літератури:

1. Leonova N., Pirog T., Piatetska D., Shevchuk T., Kharkhota M., Iutynska G. Synthesis of gibberellins by surfactant producers *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017. *Scientific Study & Research.* 2020, 21 (4): 497 – 509.

2. Banerjee A., Sharkey T. D. Methyl erythritol 4-phosphate (MEP) Pathway metabolic regulation. natural product reports. 2014; 31(8): 1043– 1055.

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАНННЯ *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR *KURSTAKI* ДЛЯ СТВОРЕННЯ БІОІНСЕКТИЦИДУ

Галицька І.Є.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, halytska.iryna1@lll.kpi.ua

Вступ. На сьогодні різноманітні шкідники рослин є великою загрозою для сільського господарства. Сільськогосподарським культурам у всьому світі завдають шкоди понад 10 000 видів комах, які спричиняють орієнтовні щорічні втрати сільськогосподарського виробництва на 11 % [1]. Найчисельнішими видами серед шкідників є представники ряду лускокрилих, зокрема родини совок, частота виявлення яких становила 75% [2]. Упродовж довгого часу для боротьби з шкідниками використовують синтетичні пестициди. Тривале застосування таких пестицидів сприяє розвитку стійкості до них. Так, більше 500 видів членистоногих шкідників набули резистентності до одного чи кількох інсектицидів [3], а стійкі до гербіцидів бур'яни нараховують близько 200 видів.

Хімічні засоби захисту рослин спричиняють негативний вплив як на навколишнє середовище, так і на людину [4]. Токсичний вплив мають не тільки пестициди, але й продукти їх метаболізму, які проявляють ембріотоксичну, мутагенну, та канцерогенну дію [3]. Особливо негативного впливу зазнають корисні комахи. Згідно з дослідженнями у багатьох країнах світу за рахунок застосування пестицидів популяція медоносних бджіл скоротилася на 30%, а біомаса корисних комах зменшилася на 70% [5]. Тому створення ефективних та екологічно безпечних біоінсектицидів є актуальним.

На сьогодні найбільш поширеними у використанні є саме мікробні пестициди. Основні групи бактеріальних ентомопатогенів включають *Pseudomonas,* Yersinia, *Chromobacterium* та ін, а гриби включають *Trichoderma, Beauveria, Metarhizium, Verticillium, Lecanicillium, Hirsutella, Paecilomyces*, нематоди, наприклад, *Heterorhabditis ma Steinernema*. Для виготовлення більшості комерційних біопестицидів використовують *Bacillus thuringiensis* [6]. Ефективність ентомоцидної дії біопрепаратів на комах залежить від штамів, які продукують різні за хімічним складом токсини. Перспективними напрямками досліджень є отримання такого штаму для виробництва препарату, який був би універсальним і ушкоджував якомога більше видів комах-шкідників.

Метою нашої роботи було обґрунтування застосуванння *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* для отримання біоінсектициду.

Методи дослідження. Дослідження проводили шляхом аналізу наукової літератури з використанням міжнародних систем цитування (NCBI, PubMed, OUCI та ін.).

Результати та обговорення. Альтернативою хімічним засобам боротьби із шкідниками є біологічні препарати. Біопрепарати для захисту рослин виготовляються з природних речовин, зокрема рослин, мікробіоти, наночастинок

біологічного походження та ін [7]. Механізм дії біопрепаратів ґрунтується на антагонізмі між різними видами мікроорганізмів або прояві їх антибіотичної активності, зокрема за рахунок виділення в зовнішнє середовище речовин, які є токсичними для конкурентних організмів [8]. Тому на відміну від синтетичних пестицидів, біопестициди екологічно безпечні, специфічні у прояві своєї дії, їх можна легко отримати без використання дорогих хімікатів.

За рахунок значної ефективності одними із найбільш перспективних біопрепаратів для контролю чисельності комах є мікробні препарати на основі ентомопатогенних бактерій *Bacillus thuringiensis*. Більше 90% всіх бактеріальних біопрепаратів виробляються саме на основі цих бактерій [9]. *Bacillus thuringiensis* здатні утворюють спори, продукувати кристалічні ендотоксини, термостабільний екзотоксин та інші білки та сполуки з інсектицидними та фунгіцидними властивостями.

Діючою речовиною біопрепаратів на основі *Bacillus thuringiensis* є саме бактеріальні спори та кристали білоквмісних ендотоксинів (Bt-токсинів). Потрапляючи в травну систему шкідників, спори препарату, що містяться в рослинному кормі, проростають у вегетативні клітини з утворенням ендотоксичних кристалів. Окрім цього, спори препарату можуть потрапляти в гемолімфу комах, де проростають викликаючи їх захворювання та загибель.

При виробництві біопрепаратів зазвичай використовують такі підвиди даної бактерії:

- *Bt var. kurstaki* (*Lepidoptera*) - часто використовується проти непарного шовкопряда, листовертки і багатьох шкідників овочів;
- *Bt. aizawai* (*Lepidoptera*) - використовується проти личинки воскової молі;
- *Bt. israelensis* (*Diptera*) - часто використовується для комарів;
- *B.t. san diego* та *tenebrionis* (Coleoptera) — часто вживаний проти в'язового листоїда, колорадського жука.

На сьогодні значним попитом користуються препарати на основі *Bt var. kurstaki* [10].

Bt var. kurstaki штаму HD – 1, будучи ізольовані з наземного середовища, орієнтовані на виживання саме в ґрунті, на відміну від *B. thuringiensis subsp. israelensis*, що орієнтований на виживання у заболочених та воднх середовищах, Саме це дозволяє ефективно використовувати *Bt var. kurstaki* для захисту сільськогосподарських культур [10].

Штам *Bt. var kurstaki HD-1* утворює δ – ендотоксин, що кодується Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac і Cry2A генами. Ендотоксин при потраплянні в організм комах спричиняє антифідантний ефект та загибель. За рахунок цього він чинить вибіркову дію на певні види комах, а саме лускокрилих[11]. Порядок *Lepidoptera* охоплює більшість чутливих видів, що належать до важливих для сільського господарства родин, таких як *Cossidae, Gelechiidae, Lymantriidae, Noctuidae,*

Pieridae, Pyralidae, Thaumetopoetidae, Tortricidae та *Yponomeutidae* [12]. Основним цільовими шкідниками є різні види молі, совок, білани, листовертки, пильщики, метелики та гусінь [13,14].

Також перевагою цього штаму є те, що він впливає на широке коло лускокрилих шкідників, навідміну від *Bt. aizawai*, що також є токсичним для лускокрилих, але має дуже вузьке коло цільових шкідників, а саме згубно діє лише на деяких личинок молі [15].

Також даний штам позитивно впливає на ріст і розвиток рослин. Показано, *Bt var. kurstaki* можуть колонізувати коріння рослин та здатні виробляти метаболіти, які стимулюють їх ріст. Ці сполуки включають індол – 3 – оцтову кислоту, пролін, ензими солюбілізації фосфату. Їх дія призводить до збільшення росту пагонів, біомаси (більше, ніж на 20%) мікроелементів у пагонах і при цьому запобігає розвитку оксидативного стресу за рахунок підвищення активності антиоксидантних ензимів [13].

Біопрепарат на основі *Bt var. kurstaki* можна використовувати на всіх стадіях росту рослин, він не володіє фітотоксичністю, рослини можна оброблювати як в період цвітіння, так і перед збиранням врожаю, тому даний біопрепарат можна використовувати в заповідниках, густонаселених місцевостях та курортних зонах [1].

Однією з переваг *Bt var. kurstaki* штаму HD-1 є його безпечність для навколишнього середовища та людини, про що свідчать задокументовані дані. Тоді як, *B. thuringiensis Al Hakam* не має жодних повідомлень про екологічну безпеку, що робить його потенційно небезпечним для людини та навколишнього середовища [13,16].

Варто зазначити, що при оптимальних умовах культивування (при температурі 28℃, pH 7,0 – 7,2 та аерації) і при вирощуванні на збалансованому середовищі дає достатньо високий титр клітин та спор і таким чином можна буде забезпечити відповідну ефективність препарату. А саме при культивуванні на поживному середовищі складу: дріжджі, кукурудзяне борошно, соєве борошно, амоній фосфорнокислий однозаміщений та калій хлористий , можна отримати титр 4,9-5,1 млрд сп/мл.

Висновки. *Bt. var kurstaki* є перспективним для виготовлення біоінсектициду на його основі, оскільки має ряд переваг: екологічну безпечність, є економічно вигідним, має вибіркову дію тільки на певні види комах-шкідників, зокрема представників лускокрилих комах; позитивно впливає на ріст і розвиток рослин.

Список використаної літератури:

1. Vimala Devi, P.S., Duraimurugan, P., Chandrika, K.S.V.P.,et al. Nanobiopesticides for Crop Protection. In: Nanobiotechnology Applications in Plant Protection. Abd-Elsalam, K.A. and Prasad, R. (Eds.), Volume 2, Springer Nature, Switzerland. 2019, 145-168.

2. Chykhrai, A. V., & Mostoviak, S. M. Lepidipteran pests of soybean in the conditions of the Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine. Bulletin of Poltava State Agrarian Academy.2022, 62–68.

3. Sabarwal, A., Kumar, K., and Singh, R. P. Hazardous effects of chemical pesticides on human health–cancer and other associated disorders. Environ. Toxicol. Pharmacol. 2018, 103–114.

4. Hashimi, M. H., Hashimi, R., and Ryan, Q. Toxic effects of pesticides on humans, plants, animals, pollinators and beneficial organisms. 2020, 37–47.

5. Ali, S., Ullah, M. I., Sajjad, A., Shakeel, Q., and Hussain, A. "Environmental and health effects of pesticide residues" in Sustainable Agriculture Reviews. eds. Inamuddin, M. I. Ahamed and E. Lichtfouse (New York, NY: Springer). 2021, 311–336.

6. Kumar, J., Ramlal, A., Mallick, D., et al. An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. Plan. Theory 10:1185. 2021

7. Rosas-García N.M. Biopesticide production from Bacillus thuringiensis: an environmentally friendly alternative, Recent Pat. Biotechnol. 2009, 28–36

8. Pole A, Srivastava A, Zakeel M.C.M, et al. Role of microbial biotechnology for strain improvement for agricultural sustainability. Editor(s): Ravindra Soni, Deep Chandra Suyal, Ajar Nath Yadav, Reeta Goel, In Developments in Applied Microbiology and Biotechnology, Trends of Applied Microbiology for Sustainable Economy, Academic Press, 2022, 285-317

9. Ruiu, L. Microbial biopesticides in agroecosystems. Agronomy 8:235, 2018

10. Bishop, A. H., & Robinson, C. V. Bacillus thuringiensisHD-1 Cry−: development of a safe, non-insecticidal simulant forBacillus anthracis. Journal of Applied Microbiology, 117(3).2014, 654–662.

11. Roh J. l., Choi J. Y, Li M.S.,et al. Bacillus thuringiensis as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. 2007 Apr;17(4):547-59.

12. Iriarte J, Caballero P. Biología y ecología de Bacillus thuringiensis. Bioinsecticidas: Fundamentos y Aplicaciones de Bacillus thuringiensis en el Control Integrado de Plagas. Caballero P, Ferré J, Eds. Phytoma-España 2001, 15-44.

13. Jouzani, G. S., Valijanian, E., & Sharafi, R. Bacillus thuringiensis: a successful insecticide with new environmental features and tidings. Applied Microbiology and iotechnology.2017, 2691–2711.

14. Li, M. S., Je, Y. H., Lee, I. H.. Isolation and Characterization of a Strain of Bacillus thuringiensis ssp. kurstaki Containing a New δ-Endotoxin Gene. Current Microbiology, 45(4). 2002, 299–302.

15. Anastassiadou M, Arena M, Auteri D, et al. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance Bacillus thuringiensis ssp. aizawai strain GC-91. EFSA J. 2020, 5;18(11):e06293..

16.Melo AL, Soccol VT, Soccol CR. Bacillus thuringiensis: Mechanism of action, resistance, and new applications: A review. Critical Reviews in Biotechnology. 2016 ;36:317-326

ПОРІВНЯННЯ ВПЛИВУ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ ЗАЛІЗА Fe_3O_4 НА РІСТ ТВАРИН, РОСЛИН ТА ГРИБІВ

Громнадська М. О., Горобець С. В., Фурсік А. В.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, hro.maryna@gmail.com

Вступ. Наноматеріали все більше знаходять своє застосування в різних галузях промисловості, науки та технологій, зокрема, у таких, як хімічні технології, медицина, фармакологія та біотехнологія. Це спричинено, насамперед, такими їх фізико-хімічними властивостями, як легкість у здійсненні модифікації, малі розміри, підвищена реактивність та біологічна дія і велика площа реакційної поверхні [1].

Широке застосування наразі мають, зокрема, наночастинки оксидів заліза. Доведено, що у визначених концентраціях вони позитивно впливають на ефективність росту рослин і грибів [2, 3] та підвищення їх врожайності. Також було встановлено, що при введенні наночастинок оксиду заліза може посилюватись та пришвидшуватись проростання насіння, ріст коренів, пагонів та рослин в цілому, шляхом покращення продуктивності фотосинтезу та доступності феруму і фосфору [2-6]. За допомогою мікроскопії (світлового та електронного мікроскопів) було показано, що здійснюється це, в тому числі, завдяки збільшенню кількості хлоропластів, а також регуляції розвитку судинних пучків. При введенні наночастинок оксиду заліза рослини виростають вищими, збільшується кількість листків на гілці, площа листя, діаметр стебла та біомаса [5].

При застосуванні наночастинок оксиду заліза в рослинах стимулюються метаболічні процеси та антиоксидантна активність [7]. Також спостерігається збільшення вмісту у листі фотосинтетичних пігментів, феруму, фосфору та калію, відбувається стимуляція процесу дихання [6].

Відомо, що металовмісні наночастинки чинять позитивний вплив на продуктивність тварин, покращують їх стан та характеристики через підтримку гомеостазу крові, кишкової мікрофлори, запобігання окислювальному пошкодженню, посилення імунної відповіді тощо. Металовмісні наночастинки можуть застосовуватися при дефіциті поживних речовин у тварин (підвищується біодоступність і покращується засвоюваність) та можуть збагачувати продукти тваринного походження мікроелементами. Металовмісні наночастинки також пропонують в якості часткової заміни неорганічних солей та кормових добавок [8]. Варто зазначити, що при їх високих концентраціях відбувається пригнічення росту організмів та згубна дія.

Саме тому дослідження впливу наночастинок оксиду заліза на метаболізм тварин загалом та на ріст, зокрема, залишається відкритим питанням.

Метою даної роботи було дослідження впливу наночастинок оксиду заліза Fe_3O_4 на ріст тварин та проведення порівняльного аналізу впливу наночастинок заліза різної концентрації на ріст та морфологію рослин та грибів.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували 20 молодих статевозрілих особин *Danio rerio* дикого типу у віковій групі 5-6 місяців (життєвий цикл до 5 років). Тварини були розділені порівну на дві групи:

контрольну та експериментальну. Тваринам експериментальної групи щоденно протягом 28 днів перорально вводили 100 мкл магнітної рідини із концентрацією наночастинок оксиду заліза Fe_3O_4 0,002 мг/г. Тваринам контрольної групи щоденно протягом 28 днів перорально 100 мкл води. Для оцінки зміни приросту маси проводили зважування риб за допомогою електронних ваг.

Всі експерименти у даному дослідженні проводились з дотриманням загальних правил та норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та Законом України «Про захист тварин від жорстокої поведінки» (2006), а також відповідно до «Правил поводження з тваринами, що використовуються в наукових експериментах, тестуванні, навчальному процесі, виробництві біологічних препаратів».

Результати та обговорення. Важливо дослідити вплив наночастинок магнетиту у визначеній концентрації на ріст тварин (табл. 1) та встановити чи не спостерігається згубного впливу в результаті взаємодії введених ззовні наночастинок оксиду заліза Fe_3O_4 та біогенних магнітних наночастинок, адже відомо, що біогенні магнітні наночастинки в органах та тканинах тварин локалізуються в стінках капілярів [9].

Таблиця 1. Вплив введених наночастинок оксиду заліза Fe_3O_4 на ріст риб *Danio rerio*

Група досліджуваних організмів	Середня вага досліджуваних організмів на 28 день експерименту, г
Контрольна група	0,70±0,02
Експериментальна група	0,83±0,03

Нами було встановлено, що введення наночастинок оксиду заліза Fe_3O_4 в концентрації 0,002 мг/г прискорює процес росту риб *Danio rerio* дикого типу. В результаті дослідження було показано, що середня вага тварин експериментальної групи збільшується на 19 % у порівнянні з середньою вагою тварин контрольної групи, що свідчить про позитивний вплив розчину магнетиту у визначеній концентрації на ріст риб *Danio rerio*.

При дослідженні впливу наночастинок магнетиту різних концентрацій на ріст та морфологію гороху [2] показано, що маса рослин, вирощених на ґрунті з додаванням наночастинок магнетиту концентрацією 0,1 мг/мл, збільшується на 33 % у порівнянні з контролем. Водночас, середня вага базидієвих грибів, вирощених на субстраті з додаванням наночастинок магнетиту концентрацією 0,1 мг/мл, збільшується на 40-68 % у порівнянні з контролем [3].

Висновки. За результатами проведених досліджень нами було визначено підвищення приросту маси риб *Danio rerio* при пероральному введенні наночастинок оксиду заліза Fe_3O_4. Отримані результати впливу штучних магнітних наночастинок на ріст тварин відповідають експериментальним результатам про подібний вплив магнітних наночастинок на метаболізм рослин і грибів, тобто індукування прискорення їх росту при помірних концентраціях

наночастинок магнетиту та пригнічення їх росту при високих концентраціях [2, 3]. Отже, введені наночастинки оксиду заліза Fe_3O_4 у визначених концентраціях, взаємодіючи з біогенними магнітними наночастинками, можуть суттєво впливати на процеси масопереносу везикул, органел, структурних елементів мембрани та інших компонентів [2], зумовлюючи прискорення росту організмів.

Список використаної літератури:

1. Siddiqi K. S., Rahman A., Tajuddin H. A. Biogenic fabrication of iron/iron oxide nanoparticles and their application. *Nanoscale Res. Lett*. 2016. Vol. 11. 498.
2. Gorobets Yu., Gorobets S., Gorobets O., Magerman A., Sharai I. Biogenic and Anthropogenic Magnetic Nanoparticles in the Phloem Sieve Tubes of Plants. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2023. Vol. x, No. x. P. e5484.
3. Gorobets S., Gorobets O., Sharay I., Yevzhyk L. The influence of artificial and biogenic magnetic nanoparticles on the metabolism of fungi. *Functional Materials*. 2021. Vol. 29, No. 1. P. 315-322.
4. Rastogi A., Zivcak M., Sytar O., Kalaji H. M., He X., Mbarki S., et al. Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Front Chem.* 2017. Vol. 5. 78.
5. Wang H., Kou X., Pei Z., Xiao J. Q., Shan X., Xing B. Physiological effects of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles on perennial ryegrass (*Lolium perenne L.*) and pumpkin (*Cucurbita mixta*) plants. *Nanotoxicology*. 2011. Vol. 5, No. 1. P. 30-42.
6. Feng Y., Kreslavski V. D., Shmarev A. N., Ivanov A. A., Zharmukhamedov S. K., Kosobryukhov A., Yu Min, Allakhverdiev S. I., Shabala S. Effects of Iron Oxide Nanoparticles (Fe_3O_4) on Growth, Photosynthesis, Antioxidant Activity and Distribution of Mineral Elements in Wheat (*Triticum aestivum*). *Plants* 2022. Vol. 11, No. 14. 1894.
7. Farooqui A., Tabassum H., Ahmad A., Mabood A., Ahmad A., Ahmad I. Z. Role of nanoparticles in growth and development of plants: a review. *Int. J. Pharm.* 2016. Vol. 7. P. 22-37.
8. Michalak I., Dziergowska K., Alagawany M., Farag M. R., El-Shall N. A., Tuli H. S., Emran T. B., Dhama K. The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry. *Vet Q*. 2022. Vol. 42, No. 1. P. 68-94.
9. Gorobets S., Gorobets O., Gorobets Y., Bulaievska M. Chain-Like Structures of Biogenic and Nonbiogenic Magnetic Nanoparticles in Vascular Tissues. *Bioelectromagnetics.* 2022. Vol. 43, No. 2. P. 119-143.

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПРОДУЦЕНТА ДЛЯ ОТРИМАННЯ ІНТЕРФЕРОНУ ГАММА

Даллул Л.І., Гринюк І.І.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, dalloul.linda@lll.kpi.ua

Вступ. Інтерферон гамма (IFNγ) є одним із ключових цитокінів, які беруть участь в імунній відповіді. Це єдиний представник інтерферонів II типу, виробляється переважно натуральними кіллерами та активованими Th1-клітинами [1]. Він є основним активатором макрофагів серед цитокінів та здатен більш активно впливати на імунну систему порівняно з IFNα та IFNβ. Окрім того, завдяки своїм цитостатичним, проапоптичним та антипроліферативним властивостям, гамма-інтерферон вважається перспективним для ад'ювантної імунотерапії різних типів раку [3, 4]. Показано, що IFNγ здатен запобігати поділу пухлинних шляхом зупинки клітинного циклу [4].

За часом створення і використання IFN поділяють на природні (I покоління), рекомбінантні (II покоління) та гібридні, синтетичні або мутантні (III покоління).

Використання препаратів IFNγ природного походження, зокрема людського лейкоцитарного IFNγ обмежується високою вартістю та дефіцитом сировини, яка застосовується для його виробництва. Окрім того недоліками природного препарату IFNγ є складність стандартизації його противірусної активності, нестабільність складу цитокінів в різних серіях. Це, в свою чергу, ускладнює передбачення побічних ефектів в кожному конкретному випадку.

Тому останнім часом все більше уваги приділяють рекомбінантним препаратам, розробленим за допомогою генно-інженерних технологій [1, 5 – 8]. На відміну від препаратів IFN природного походження, такі препарати мають високий ступінь очистки. На сьогодні існує декілька способів отримання інтерферону гамма, найпоширенішим серед яких є виробництво з використанням генетично модифікованого продуцента. Вибір продуцента є ключовим етапом в біотехнологічному процесі, тому метою нашої роботи було обґрунтувати вибір найефективнішого штаму продуцента для виробництва рекомбінантного інтерферону гамма.

Матеріали і методи. Дослідження використання різних видів продуцентів для виробництва інтерферону гамма проводили шляхом аналізу наукової літератури з використанням міжнародних систем цитування (PubMed, ResearchGate та ін.).

Результати та обговорення. В якості продуцентів рекомбінантного гамма-інтерферону використовують дріжджі (*Pichia pastoris*) та бактерії (*Escherichia coli*) [1].

Pichia pastoris - метилотрофні дріжджі, які вважають універсальною платформою для експресії гетерологічних розчинних білків, оскільки в них присутній механізм посттрансляційної модифікації, який забезпечує правильне згортання білкової молекули [6,7].

Для отримання високого виходу інтерферону гамма Prabhu зі співавторами сконструювали рекомбінантні штами *P. pastoris:* GS115- hIFNγ — з нативним

геном гамма-інтерферону, GS115-hIFNγ-PDI — з нативним геном гамма-інтерферону та коекспресією PDI, GS-hIFN-γopt — з геном гамма-інтерферону, що містив оптимізовані кодони. Було встановлено, що штам GS115-hIFNγ синтезував гамма-інтерферон у кількості (0,0002 г/л). При культивуванні GS115-hIFNγ-PDI продукція інтерферону зросла у 2,5 рази та становила 0,0005 г/л. Оптимізація кодону гена, що кодує IFNγ, призвела до значного посилення продукції білка, яке досягло 0,0018 г/л. Такий вихід зумовлено більшою ефективністю трансляції та більш стабільною мРНК. Тому в подальшому автори оптимізували параметри культивування штаму GS-hIFNγopt. Після оптимізації параметрів (t = 25 °C, pH = 7, концентрація метанолу – 1 %, швидкість перемішування – 250 об/хв, концентрація інокулята – 2 %) продукція гамма-інтерферону штамом GS-hIFNγopt зросла ще на 40% - до 0,00252 г/л [6]. Проте такий вихід продукту не є перспективним для комерційного виробництва гамма-інтерферону.

Razaghi A. et al проаналізувавши близько 50 трансформованих колоній *P. pastoris* також зробили висновок, що комерційне виробництво рекомбінантного IFNγ є економічно невигідним, оскільки найвищий рівень IFNγ було зареєстровано для *P. pastoris* CBS7435: MutS та становило ~ 0,000016 г/л.

Найчастіше в промисловому виробництві застосовують бактерії *Escherichia coli*. Цей мікроорганізм має ряд переваг: здатність розмножуватися шляхом простого поділу на середовищах, що містять недорогі і легкодоступні компоненти, такі як глюкоза, пептон, дріжджовий екстракт, швидкий ріст, потенційно високі рівні експресії протеїнів, порівняно з іншими мікроорганізмами, легке маніпулювання геномом, більшість параметрів культивування можна змінити для оптимізації експресії білка [8, 9].

Найбільші значення продукування гамма-інтерферону було встановлено для штамів *E. coli* GALG20 (DE3), BL21(DE3). Мутантний штам GALG20 (DE3) був розроблений раніше зі штаму K12 дикого типу MG1655 для збільшення продуктивності плазміди та характеризується мутацією гена pgi, який кодує фермент фосфоглюкозоізомеразу.

Штам *E. coli* BL21 (DE3), трансформований плазмідою pET3a та має ряд переваг у порівнянні з іншими штамами: швидкий ріст клітин у середовищі з мінімальним складом, низьке утворення ацетату при вирощуванні на високих рівнях глюкози, низький вміст протеази та здатність росту культури до високої щільності.

Pandey R. та співавторами було показано, що штам GALG20(DE3) продукував у 3,0 та 1,5 раза більше IFNγ порівняно з штамом дикого типу MG1655(DE3) та BL21(DE3) відповідно. Більша частина загального IFN-γ була експресована у вигляді тілець включення - 95% у GALG20(DE3), 97% у *BL21(DE3)* та 72% у MG1655(DE3). Число копій мРНК, що кодує IFN-γ було також вищим у штаму GALG20(DE3) порівняно з двома іншими штамами. Продукція IFN-γ штамом GALG20(DE3) становила 0,23 г/л, тоді як штамами MG1655(DE3) та BL21(DE3) виражений 0,07 г/л та 0.16 г/л IFN-γ відповідно [10].

Висновки. Отже, порівнявши технологічні показники різних штамів-продуцентів гамма-інтерферону та вихід цільового продукту для кожного з них, встановлено, що продуцент *P. pastoris* є економічно невигідним для промислового біосинтезу IFNγ, а більш доцільнішим є використання штаму *Escherichia coli* GALG20 (DE3), оскільки він має найбільший вихід цільового продукту порівняно з іншими продуцентами.

Список використаної літератури:

1. Hu Y, Alnabulsi A, Alnabulsi A, Scott C, Tafalla C, Secombes CJ, Wang T. Characterisation and analysis of IFN-gamma producing cells in rainbow trout Oncorhynchus mykiss. Fish Shellfish Immunol. 2021 Oct; 117:328-338. doi: 10.1016/j.fsi.2021.07.022
2. Resende M., Cardoso M. S., Ribeiro A. R., et al. Innate IFN-γ–Producing Cells Developing in the Absence of IL-2 Receptor Common γ-Chain. *J Immunol* 15 August 2017; 199 (4): 1429–1439. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601701
3. Jorgovanovic, D., Song, M., Wang, L. et al. Roles of IFN-γ in tumor progression and regression: a review. Biomark Res 8, 49 (2020). https://doi.org/10.1186/s40364-020-00228-x
4. Ni L., Lu J. Interferon gamma in cancer immunotherapy. Cancer Med. 2018 Sep;7(9):4509-4516. doi: 10.1002/cam4.1700. Epub 2018 Jul 23. PMID: 30039553; PMCID: PMC6143921.
5. Trinh L.B., Phue J.N., Shiloach J. Effect of methanol feeding strategies on production and yield of recombinant mouse endostatin from *Pichia pastoris*. Biotechnol Bioeng. 2003 May 20;82(4):438-44. doi: 10.1002/bit.10587.
6. Prabhu A. A., Veeranki V. D., Dsilva S. J. Improving the production of human interferon gamma (hIFN-γ) in Pichia pastoris cell factory: an approach of cell level. Process Biochem. 2016, 51 (6): 709—718. doi: 10.1016/j.procbio.2016.02.007.
7. Razaghi A, et al., Is Pichia pastoris a realistic platform for industrial production of recombinant human interferon gamma?, Biologicals (2016), http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2016.09.015
8. Castro L.S., Lobo G.S., Pereira P., Freire M.G., Neves M.C., Pedro A.Q. Interferon-Based Biopharmaceuticals: Overview on the Production, Purification, and Formulation. Vaccines (Basel). 2021 Apr 1;9(4):328. doi: 10.3390/vaccines9040328. PMID: 33915863; PMCID: PMC8065594.
9. Нєчаєва Я.О., Грабчук С.М., Горшунов Ю.В., Мотроненко В.В., Галкін О.Ю. Рекомбінантні білки терапевтичного призначення: особливості отримання, вивчення безпечності та ефективності (літературний огляд). Вісник Запорізького національного університету. 2017. №2, С. 85-93.
10. Pandey R., Kumar N., Monteiro G. A., Veeranki V. D., Prazeres D. M. F. Re-engineering of an Escherichia coli K-12 strain for the efficient production of recombinant human interferon gamma. Enzyme Microb. Technol. 2018, 117: 23-31. doi: 10.1016/j.enzmictec.2018.06.001.

ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ *PLEUROTUS OSTREATUS* НА РІДКИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ ІЗ ДОДАВАННЯМ ЕКСТРАКТІВ ТИРСИ БУКОЦВІТИХ У СТАЦІОНАРНІЙ КУЛЬТУРІ

Зубик П.Р., Клечак І.Р.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, pv.zubyk@i.ua

Вступ. Базидіоміцети роду *Pleurotus* є джерелом поживних сполук, що містяться у біомасі: вітамінів, білків, клітковини, мінералів, глюкопротеїдів тощо, які виявляють антиканцерогенні, протидіабетичні, антиоксидантні, протимікробні, гепатозахисні та інші властивості [1]. Залишки лігноцелюлози містять фенольні сполуки, дубильні речовини, полісахариди, органічні кислоти тощо, які в процесі екстракції можуть переходити у водну фазу [2]. Таким чином, вони можуть бути ефективними для накопичення біомаси макроміцетів.

Тому метою дослідження було визначити вплив екстрактів тирси букоцвітих на ростові показники *P. ostreatus* у стаціонарній культурі.

Матеріали та методи. Об'єкти дослідження. Два штами *P. ostreatus* (*P. ostreatus* 8 та *P. ostreatus* 12) отриманих з Національної колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Т. Холодного НАН України (ІБК), відібрані на попередніх етапах дослідження. Умови культивування. Культивування проводили на рідких поживних середовищах Норкранс, pH 6,8 (50 $см^3$ середовища в колбах Ерленмейєра об'ємом 250 $см^3$) у стаціонарній культурі за температури 28°С упродовж 21 доби. Як розчинник використовували екстракти тирси берези та дубу приготовані за [3] або воду для контрольного середовища. Як інокулюм використовували міцелій з попередньо вирощеної 5-ти денної культури на сусло-агарі. Визначення аналітичних показників. Після культивування визначали концентрацію біомаси та кількість сухих речовин (ваговим методом), концентрацію редукуючих цукрів (методом Хагедорна-Йенсена), активну кислотність (потенціометричним методом) та концентрацію білків (методом Лоурі). Економічний коефіцієнт розраховували за редукуючими цукрами ($Y_{РЦ}$) та сухими речовинами ($Y_{СР}$) [4].

Статистична обробка результатів. Досліди проводили в трьох повторностях. Отримані значення обробляли статистично за допомогою методу ANOVA. Статистично достовірними приймали значення, для яких величина *p-value* < 0,05.

Результати та обговорення. В роботі було досліджено 3 типи поживних середовищ, зокрема: контрольне (СН-К), середовище на основі екстракту тирси берези (СН-Бр) та дубу (СН-Д). Результати дослідження представлені на рис. 1-3 і в табл. 1.

Тенденція накопичення біомаси обома штамами *P. ostreatus* на кожному із середовищ подібна (рис. 1). Не спостерігали статистично значущих відмінностей між концентраціями біомаси обох штамів на всіх середовищах, крім СН-Бр. Культивування на середовищі із додаванням екстракту тирси берези зумовлювало найбільші рівні біомаси, а саме (2,6 ± 0,1) $г/дм^3$ і (2,1 ± 0,1) $г/дм^3$ для штамів 8 та 12 відповідно.

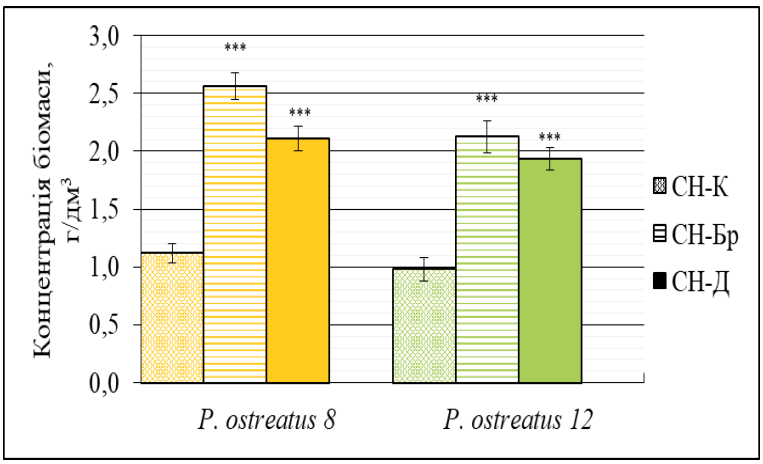


Рис. 1. Вихід біомаси

Як видно з табл. 1. додавання екстрактів тирси деревини підвищує значення економічних коефіцієнтів. Найвища ефективність споживання компонентів поживних середовищ спостерігалася на СН-Бр, що свідчить про більшу сприятливість такого екстракту для *P. ostreatus*.

Таблиця 1. Економічні коефіцієнти

Досліджуваний показник	Досліджуване середовище	*P. ostreatus* 8	*P. ostreatus* 12
$Y_{РЦ}$, %	СН-К	17,8	16,8
	СН-Бр	26,8	22,0
	СН-Д	24,7	22,9
$Y_{СР}$, %	СН-К	11,7	10,2
	СН-Бр	24,1	20,9
	СН-Д	19,0	17,0

В ході культивування культуральна рідина закислюється до значень від 3,2 до 4,3 (рис. 2), зокрема на контрольному середовищі pH було вищим. Хоча кислотність після росту на СН-Бр і СН-Д була нижчою відносно СН-к, проте не спостерігалося статистичних змін між значеннями для аналогічних середовищ різними штамами. Це свідчить про відсутність міжштамових відмінностей у впливі складу середовища на синтез сполук, що впливають на кислотність.

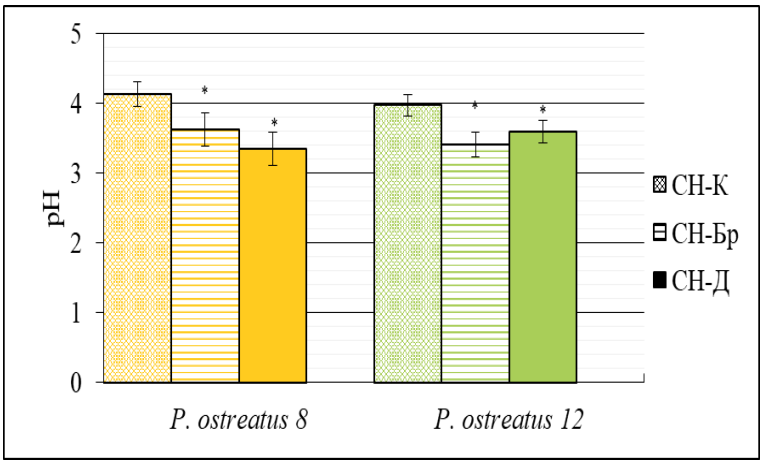


Рис. 2. Кислотність культуральної рідини

Водночас спостерігається збільшення кількості білків на середовищах із екстрактами тирси. Слід зазначити, що на середовищі із екстрактом тирси дубу концентрація білків на 20% вища, ніж на іншому досліджуваному середовищі.

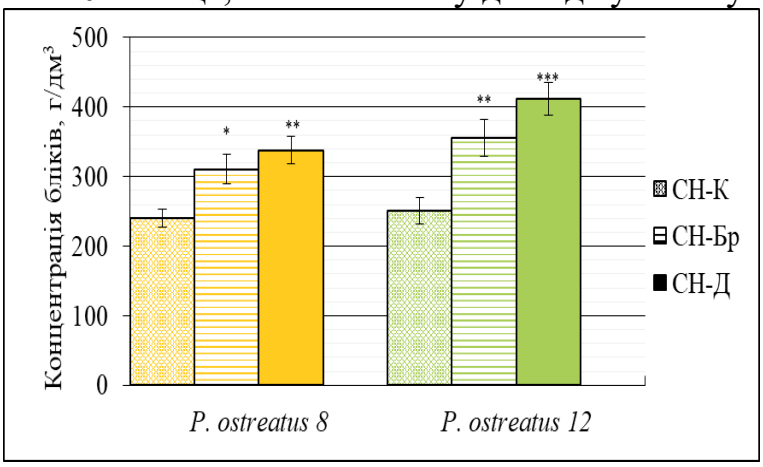


Рис. 3. Концентрація білків

Вища концентрація біомаси на середовищах із екстрактами тирси може бути пов'язана із наявністю поживних сполук у складі екстрактів, зокрема, моносахаридів, фенолів, органічних кислот тощо. Водночас, посилюються процеси перетворення органічних кислот у циклі Кребса, що призводить до більшого закислення середовищ. Крім того, ефект збільшення кількості білків пов'язаний із накопиченням ферментів циклу Кребса, і, в першу чергу, оксидаз, що здійснюють перетворення фенольних субстратів, які містяться в середовищах із додаванням екстрактів тирси [5, 6].

Висновки. Додавання екстрактів тирси берези та дубу позитивно впливає на ростові характеристики *P. ostreatus*, що може бути запропонованим для утилізації лігноцелюлозного матеріалу та отримання посівного міцелію чи плодових тіл.

Список використаної літератури:

1. Pk, M. M. U., O'Sullivan, J., Pervin, R., & Rahman, M. (2021). Antioxidant of Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumn and lymphoid cancer cells. In *Cancer* (pp. 427-437). Academic Press.

2. Świątek, K., Gaag, S., Klier, A., Kruse, A., Sauer, J., & Steinbach, D. (2020). Acid hydrolysis of lignocellulosic biomass: Sugars and furfurals formation. *Catalysts*, *10*(4), 437.

3. Зубик П.Р., Клечак І.Р., Сироїд О.О. (2022). Потенціал використання продуктів деревообробної промисловості для глибинного культивування базидієвих грибів. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали ІІ Міжнародної науково - практичної інтернет-конференції*. С. 112-114.

4. Бухало А.С., Дудка И.А. (1988). *Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре*. Наук. думка.

5. Zhu, C. X., & Hong, F. (2010). Induction of an oxalate decarboxylase in the filamentous fungus *Trametes versicolor* by addition of inorganic acids. *Applied biochemistry and biotechnology*, *160*, 655-664.

6. Parenti, A., Muguerza, E., Iroz, A. R., Omarini, A., Conde, E., Alfaro, M., ... & Pisabarro, A. G. (2013). Induction of laccase activity in the white rot fungus Pleurotus ostreatus using water polluted with wheat straw extracts. *Bioresource Technology*, *133*, 142-149.

ВПЛИВ *BACILLUS SUBTILIS* БТ-2 НА БІОЛОГІЧНУ АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241

Іванов М. С.[1], Пирог Т. П.[1,2], Шевчук Т.А.[2]
[1]Національний університет харчових технологій,
nikita.ivanov00@gmail.com
[2]Інститут мікробіології та вірусології НАН України

Вступ. На теперішній час ефективність технологій мікробних поверхнево-активних речовин, які характеризуються комплексом практично цінних фізико-хімічних та біологічних властивостей, є нижчою, ніж синтетичних аналогів. Для зниження собівартості цих продуктів мікробного синтезу як субстрати для їх біосинтезу використовують промислові відходи. У попередніх дослідженнях було встановлено, що поверхнево-активним речовинам, синтезованим *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 на відходах виробництва біодизелю, притаманна нижча антимікробна активність порівняно з утвореними на очищеному гліцерині. Основними підходами до регуляції біологічної активності мікробних поверхнево-активних речовин є їх постферментаційна хімічна модифікація, а також вдосконалення штамів-продуцентів методами метаболічної та генетичної інженерії. Останніми роками з'являється все більше публікацій про спільне культивування продуцентів антимікробних сполук з конкурентними мікроорганізмами (біологічними індукторами), у відповідь на наявність яких відбувається підвищення антимікробної активності цільового продукту.

Мета роботи - дослідити вплив живих та інактивованих клітин *Bacillus subtilis* БТ-2, а також відповідного супернатанту на антимікробну, антиадгезивну активність та здатність до руйнування біоплівок поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих на гліцерині різного ступеня очищення.

Матеріали та методи. Вирощування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 здійснювали у рідкому мінеральному середовищі з очищеним гліцерином та відходами виробництва біодизелю (3 і 5%, об'ємна частка, відповідно) як джерелом вуглецю та енергії. Живі та інактивовані клітини *B. subtilis* БТ-2, а також супернатант після вирощування штаму БТ-2 (2,5−10%, об'ємна частка) вносили у середовище вирощування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на початку процесу культивування. Поверхнево-активні речовини екстрагували з супернатанту культуральної рідини сумішшю Фолча. Антиадгезивну активність та ступінь деструкції біоплівок визначали спектрофотометричним методом, антимікробну активність − за показником мінімальної інгібуючої концентрації. Активність ферментів біосинтезу поверхнево-активних аміноліпідів ($НАДФ^+$-залежна глутаматдегідрогеназа) та гліколіпідів (фосфоенолпіруват(ФЕП)-карбоксилаза, ФЕП-синтетаза, ФЕП-карбоксикіназа, трегалозофосфатсинтаза) аналізували у безклітинних екстрактах, одержаних після руйнування клітин ультразвуком.

Результати та обговорення. Встановлено, що внесення у середовище з обома субстратами інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2 і супернатанту не впливало на показники синтезу поверхнево-активних речовин, у той час як за наявності живих клітин штаму БТ-2 у середовищі з очищеним гліцерином спостерігали зниження концентрації цільового продукту в 1,5 рази, а у середовищі з відходами виробництва біодизелю − підвищення в 1,4 рази порівняно з показниками без індуктора. Дослідження антимікробної активності поверхнево-активних речовин показало, що найефективнішими з використовуваних індукторів (живі, інактивовані клітини, супернатант) виявилися живі клітини *B. subtilis* БТ-2. Внесення живих клітин штаму БТ-2 у середовище з обома субстратами супроводжувалося утворенням поверхнево-активних речовин, мінімальні інгібуючі концентрації яких щодо бактеріальних ((*Bacillus subtilis* БТ-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Proteus vulgaris* ПА-12, *Enterobacter cloacae* С-8) і дріжджових (*Candida albicans* Д-6, *Candida tropicalis* РЕ-2) тест-культур були в 3−23 рази нижчими, ніж встановлені для синтезованих на середовищі без цього індуктора. Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин, одержаних на очищеному гліцерині і відходах виробництва біодизелю за наявності усіх типів індукторів, була вищою, ніж синтезованих у середовищі без індукторів (адгезія клітин бактеріальних і дріжджових тест-культур на полівінілхлориді становила 13−70 і 33−96 % відповідно). Внесення у середовище культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 як живих, так і інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2, а також і супернатанту супроводжувалося синтезом поверхнево-активних речовин, під впливом яких деструкція бактеріальних біоплівок була в середньому на 10−20 % вищою порівняно з показниками за дії препаратів, синтезованих без індуктора. За наявності *B. subtilis* БТ-2 у середовищі в клітинах штаму IMB B-7241 в 1,5−2 рази підвищувалася активність $НАДФ^+$-залежної глутаматдегідрогенази (ключовий фермент біосинтезу аміноліпідів), у той час як активність ферментів біосинтезу гліколіпідів залишалася практично на такому самому рівні, як і без індуктора. Такі дані свідчать про те, що вища біологічна активність поверхнево-активних речовин, утворених *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності біологічних індукторів, може бути зумовлена підвищенням вмісту в їх складі аміноліпідів.

Висновки. У результаті проведеної роботи встановлено можливість регуляції антимікробної та антиадегивної активності, а також здатності до руйнування біоплівок поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 внесенням у середовище культивування продуцента клітин конкурентних бактерій *B. subtilis* БТ-2. Важливо, що за таких умов культивування суттєво підвищувалася антимікробна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих на токсичних промислових відходах виробництва біодизелю.

ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ, СТАБІЛІЗОВАНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИМИ РЕЧОВИНАМИ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ, ДЛЯ БОРОТЬБИ ІЗ ФІТОПАТОГЕНАМИ

Іванченко Ю.М.
Національний університет харчових технологій,
guliaivanchenko@gmail.com

Вступ. Сільське господарство займає одне із провідних місць серед галузей економіки України. Зменшення потенційної врожайності сільськогосподарських культур, спричинене збудниками хвороб рослин – фітопатогенами, становить до 35%. Для сучасного сільського господарства актуальною проблемою є розробка нових екологічно безпечних антимікробних засобів із високою біологічною активністю, які пригнічують ріст і розвиток фітопатогенних бактерій і грибів. Неконтрольоване застосування хімічних пестицидів (зокрема, бактерицидів і фунгіцидів) призвело до розвитку резистентності патогенних мікроорганізмів до антибіотичних сполук. Саме тому нині велику зацікавленість у дослідників викликають препарати на основі наночастинок (НЧ) металів, яким притаманна антибактеріальна, антифунгальна й антивірусна активність. Наночастинки металів одержують хімічними, фізичними, фізико-хімічними та біологічними методами. Останні користуються все більшим попитом завдяки своїй безпечності, екологічності та невеликій собівартості одержаних препаратів НЧ металів. Суть методів «зеленого» синтезу наночастинок металів полягає у використанні біологічно-активних речовин, які завдяки своїй поліфункціональній природі одночасно слугують відновниками та стабілізаторами НЧ. Використання унікальних властивостей мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР) дає можливість виключити з технологічної ланки синтезу наночастинок металів використання відновлювальних агентів, які часто є токсичними (наприклад, гідразин) і можуть забруднювати цільовий продукт (зокрема, боргідриди металів). Синтезовані за участю мікробних ПАР наночастинки металів є нетоксичними для людини та довкілля і характеризуються високою антимікробною активністю щодо збудників хвороб рослин [1].

Матеріали та методи. Аналіз антимікробної активності щодо фітопатогенних мікроорганізмів наночастинок металів, синтезованих із використанням мікробних поверхнево-активних речовин як стабілізаторів, проводили шляхом пошуку й аналізу наукових праць за допомогою міжнародних баз даних Google Scholar та PubMed.

Результати та обговорення. Із літературних джерел відомо про утворення біогенних наночастинок металів за участю мікробних поверхнево-активних речовин гліколіпідної (рамноліпідів, софоролліпідів, манозилеритритолліпідів) та ліпопетидної (сурфактину) природи. Так, із використанням рамноліпідів одержують наночастинки срібла, золота, заліза, сульфіду цинку, оксидів цинку та нікелю. За допомогою софоролліпідів синтезують НЧ срібла, золота та заліза. За участю манозилеритритолліпідів проходить синтез наночастинок золота.

Ліпопептид сурфактин використовується для одержання наночастинок срібла, золота, оксиду заліза, сульфіду кадмію й оксиду цинку.

Аналіз сучасних літературних даних щодо біологічної активності одержаних за допомогою мікробних ПАР наночастинок металів показав, що і гліколіпіди, і ліпопептиди є ефективними стабілізаторами НЧ.

Порівняння антимікробної активності наночастинок різних металів (срібла та золота), синтезованих за участю гліколіпідів, показало, що найвища антибактеріальна активність (як щодо грам-позитивних, так і грам-негативних збудників) притаманна наночастинкам срібла [1,2].

Наночастинки срібла, стабілізовані рамноліпідом *Pseudomonas* sp. PS-17, характеризуються високою антимікробною активністю щодо фітопатогенних бактерій. Так, їх мінімальна інгібувальна концентрація щодо *Agrobacterium tumefaciens* і *Xanthomonas campestris* становить 1,4 мкг/мл. *A. tumefaciens* – грам-негативні фітопатогенні бактерії, які є збудником хвороби корончастих галлів (рослинної пухлини) понад 140 видів рослин, у тому числі сільськогосподарських культур. *X. campestris* – грам-негативні бактерії-фітопатогени, які викликають різноманітні захворювання рослин, у тому числі «чорну гниль» хрестоцвітних овочів, зокрема капусти та ріпаку [1].

Наночастинкам срібла, стабілізованим сурфактином *B. subtilis* I'-1a, притаманна висока антифунгальна активність щодо фітопатогенних грибів. Так, рівень пригнічення росту міцелію *Alternaria alternate* (збудник альтернаріозу), *Fusarium oxysporum* (збудник фузаріозного в'янення) і *Phyllosticta plantaginis* (збудник плямистості листків) становить 50%, 55% і 85% відповідно [3].

Висновки. Для одержання наночастинок металів перспективними є гліколіпіди (зокрема, рамноліпіди) і ліпопептиди (зокрема, сурфактин), оскільки синтезовані за їх участю НЧ характеризуються високою антимікробною активністю щодо патогенних мікроорганізмів. Колоїдні розчини наночастинок срібла, стабілізованих рамноліпідами та сурфактином, можна розглядати як перспективний компонент біотехнологічних препаратів для контролю чисельності фітопатогенних бактерій і грибів у рослинництві.

Список використаної літератури:

1. Базиляк Л., Киця А., Кунтий О., Корецька Н., Покиньборода Т., Прокопало А., Карпенко О. Синтез та антимікробна активність наночастинок срібла, стабілізованих рамноліпідом. Вісник Львівського університету. Серія хімічна. 2022. Випуск 63. С. 363-372.

2. Bakur A., Niu Y., Kuang H., Chen Q. Synthesis of gold nanoparticles derived from mannosylerythritol lipid and evaluation of their bioactivities. AMB Express. 2019. Vol. 9, No 1. P. 1-9.

3. Joanna C., Marcin L., Ewa K., Grażyna P. A nonspecific synergistic effect of biogenic silver nanoparticles and biosurfactant towards environmental bacteria and fungi. Ecotoxicology. 2018. Vol. 27, No 3. P. 352-359.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ НА БІОСИНТЕЗ АМІЛОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ СТРЕПТОМІЦЕТНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Івченко Є.М., Кілочок Т.П., Мітіна Н.Б.
Державний вищий навчальний заклад «Український державний хіміко-технологічний університет»

Вступ. Одним з найважливіших факторів, який визначає інтенсивність розвитку мікроорганізмів і відображується на всіх їх фізіологічних функціях є концентрації речовин, які додаються до середовищ. Від концентрації у середовищі залежить набухання колоїдних речовин, які містять зовнішню оболонку клітини, зміну проникності протоплазми і надходження речовин у клітину, а також кількість біомаси, яка утвориться. Відомо, що глутамат натрію є активатором росту та впливає на процеси первинного і вторинного метаболізму і його дія залежить від концентрації у живильному середовищі. Концентрація глутамату натрію впливає не тільки на життєдіяльність організмів, але й на утворення і активність ферментів. Проте у великій концентрації він стає токсичним. Для створення промислових виробництв амілолітичних ферментів актуальним є пошук, розробка та оптимізація живильних середовищ, а також вивчення закономірностей та механізмів регуляції біосинтезу амілолітичних ферментів в залежності від умов культивування, тому дослідження оптимальної концентрації глутамату натрію є перспективним і матиме високе практичне значення [2].

Матеріали та методи. Об'єкт дослідження – штам *Streptomyces recefensis var. lyticus 2P-15*, одержаний трьох ступінчатою селекцією продуценту, глутамат натрію $C_5H_8NO_4Na \cdot H_2O$. Штам *Streptomyces recefensis var. lyticus 2P-15* – продуцент складного комплексу бактеріологічних, дріжджолітичних та інших екстрацелюлярних ферментів та стимуляторів росту глікопротеїнової природи. До складу його метаболітів входять амілази, глікозидази, літичні ендопептидази, мурамідази, протеази. Глибинне вирощування проводили на поживному багатокомпонентному середовищі в колбах ємністю 250 мл на качалках (220 об./хв) протягом 72 годин за температури 28 °С. Визначення амілолітичної активності здійснювали за стандартною методикою [3] з використанням фотоелектроколориметра (КФМ-2МП). За одиницю амілолітичної активності АЕ приймали кількість ферменту, яка за температури 37 °С протягом 30 хвилин розщеплює 10 мг крохмалю. Одержані результати обробляли методами математичної статистики, достовірними вважали відмінності при $P<0,05$.

Результати та обговорення. Досліджуваний штам *Streptomyces recifensis var. lyticus 2P-15,* є продуцентом складного ферментного комплексу гідролітичних ензимів, які, відносяться до індуцибельних ферментів. До складу його метаболітів входять амілази, глікозидази, літичні ендопептидази, мурамідази, протеази [1]. Експериментально дослідили вплив глутамату натрію $C_5H_8NO_4Na \cdot H_2O$ з додаванням у поживне середовище з концентрацією від 0,5 до 2 % на біосинтетичні процеси штаму Streptomyces recifensis var. lyticus 2P-15.

Вплив глутамату натрію на біосинтез амілолітичних ферментів, які накопичувались в культуральній рідині наведено на рисунку.

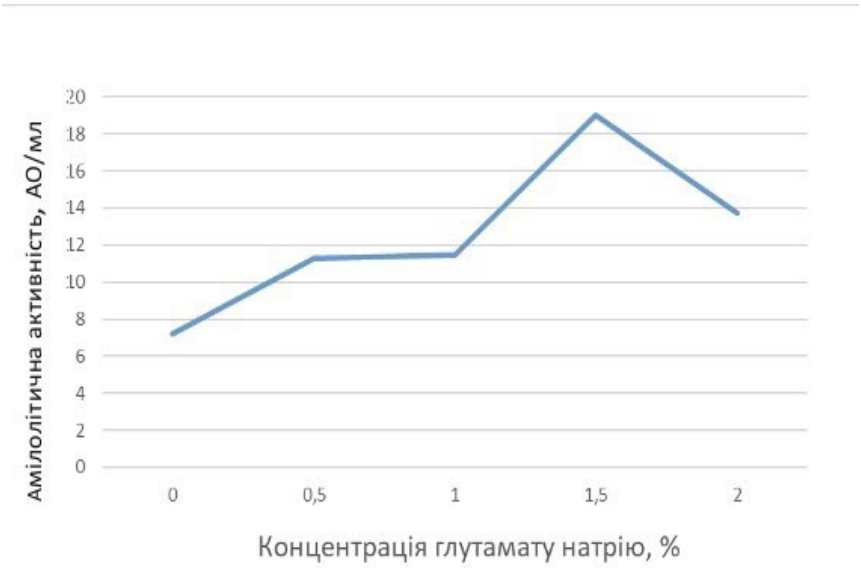


Рис. 1. Вплив глутамату натрію на амілолітичну активність штаму *Streptomyces recifensis var. lyticus*

Визначено, що при додаванні в поживне середовище глутамату натрію рівень pH у поживному середовищі знижується в кислу сторону не суттєво, збільшується накопичення біомаси штаму *Streptomyces recifensis var. lyticus 2P-15* на 27% у порівнянні з контролем. Встановлено, що додавання глутамату натрію з концентрацією 1,5% є оптимальною для підвищення біосинтетичної спроможності продуценту *Streptomyces recifensis var. lyticus 2P-15*, опісля амілолітична активність падає.

Висновки. Теоретично зазначено, що актиноміцети роду *Streptomyces* належать до одних з найбільш використовуваних в практиці продуцентів біологічно активних речовин. Промислове впровадження отриманих результатів дозволить добути підвищення виходу цільового продукту, покращити показники амілолітичної активності продукції, що вже випускається в промисловості. Оптимізація складу поживних середовищ потребує подальшої дослідницької роботи, що дозволить їх використовувати за промисловим, харчовим або фармацевтичним призначенням.

Список використаної літератури:

1. Івченко Є., Кілочок Т. Оптимізація складу поживного середовища для біосинтезу амілолітичних ферментів штамом *streptomyces recefensis var. lyticus 2p-15* // Матеріали конференцій МЦНД, Вересень 2021, – с. 69-74

3. Грегірчак Н. М., Антонюк М. М., Буценко Л. М. Іммобілізовані ферменти і клітини в біотехнології: Навч. посіб. – К.: НУХТ, 2015. – 267 с.

2. Пирог Т. П., Пенчук Ю. М. Біохімічні основи мікробного синтезу: підручник – К.: Видавництво Ліра-К, 2020. – 258 с.

ОДЕРЖАННЯ ГІДРОЛІЗАТІВ БІЛКУ З ВОДОРОСТЕЙ РОДУ *SCENEDESMUS*

Кириченко Г.В., Левтун І.І.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, kyrychenko.heorgii@lll.kpi.ua

Вступ. Мікроводорості є багатим джерелом білків, які можуть становити до 70% сухої ваги біомаси деяких видів. Такі їх представники як *Arthorspiramaxima*, рід *Synechococcus*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, *H. pluvialis* і *Scenedesmus obliquus* показують дуже високий вміст білків і подібні енергетичні цінності в порівнянні з соєю, кукурудзою і пшеницею [1]. Щоденна продуктивність клітинної маси мікроводоростей роду *Scenedesmus*, багатої на білок, становить близько 250 т/га на рік, що в десятки разів перевищує врожайність будь-якого сільськогосподарського продукту, яка в середньому складає 10-15 т/га за даними Організації Об'єднаних Націй з питань харчування [2].

Мікроводорості також мають вищу здатність до асиміляції CO_2 (50%-60%) аніж вищі рослини (10-40%), що в кінцевому підсумку сприяє зменшенню викидів парникових газів [2]. Більше того, вирощування мікроводоростей можна здійснювати на територіях з ґрунтом, водою або кліматом, які не підходять для традиційних сільськогосподарських культур [1]. Таким чином, мікроводорості не конкурують безпосередньо з продовольчими культурами, і навіть можуть допомогти в очищенні води для сільського господарства, а також сприяти розподілу доходів у посушливих регіонах.

Однією з переваг культивування штамів мікроводоростей *Scenedesmus* є надійність і легкість культивування, що робить їх придатним для великомасштабного виробництва [3]. Серед усіх представників цього роду для використання у якості джерела білку найбільше досліджений вид *Scenedesmus obliquus*. Недавні дослідження показали, що *Scenedesmus obliquus* накопичує високу загальну кількість білка (35–58% за масою сухих мікроводоростей) при вирощуванні протягом 12–15 днів у відкритій системі [4].

Метою роботи було провести аналіз та обрати ефективний та економічно доцільний метод отримання гідролізатів білку з мікроводоростей роду *Scenedesmus.*

Матеріали та методи. Оптимізація умов культивування є однією з ключових передумов для більш широкого використання *Scenedesmus Obliquus* у якості сталого джерела білку. *S. obliquus* є мезофільним мікроорганізмом, і може рости за температур від 15 до 40 °C. Окрім цього, на ріст водоростей впливає інтенсивність світла, через свій вплив на фотосинтез, та pH середовища, коливання якого також може обмежити ріст водоростей через пригнічення метаболізму [5]. Тому є необхідним пошук раціональних умов культивування мікроводоростей.

Для цього водорості вирощували у колбах об'ємом 500 мл, що містили 400 мл середовища BG11, що складалося з $NaNO_3$ (1500 мг/л), $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ (40 мг/л), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (75 мг/л), амоній ферум цитрату (6 мг/л), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (36 мг/л), Na_2CO_3 (20 мг/л), лимонної кислоти (6 мг/л), ЕДТА (1 мг/л), H_3BO_3 (2,86 мг/л), $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (1,81 мг/л), $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,22 мг/л), $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0,079 мг/л),

$(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot 4H_2O$ (0,39 мг/л) та $Co(NO_3)_2\cdot 6H_2O$ (0,049 мг/л). Початкова концентрація водоростей становила близько 0,15 г/л (сухої маси). Культивування тривало 22 дні. Масообмін проводили перемішуванням на планетарному шейкері. Освітлення здійснювали LED світильниками зі світлодіодами червоного (630 нм) та синього (465 нм) у співвідношенні 1:1 за схемою 12 годин світла, 12 годин темряви [6].

Ефективну температуру культивування визначали, проводячи експерименти за 20± 1, 25± 1, 30± 1 і 35± 1 ℃ відповідно при інтенсивності світла 28 Вт/м^2 і значенні pH середовища 8,0 [6].

Раціональну інтенсивність світла визначали проводячи експерименти за 14, 28, 32 та 46 Вт/м^2, температуру при цьому контролювали на рівні 25 ± 1 ℃, а початкове значення pH = 8,0 [6].

Ефективне значення pH встановлювали за експериментів при pH 5, 6, 7, 8, 9, 10 та 11 відповідно. Температуру підтримували на рівні 25 ± 1 ℃, а pH = 8,0 [6].

Для дослідження було обрано періодичну технологію культивування як таку, що потребує менше реагентів, є технологічно простішою і дозволяє дослідити, особливості накопичення білку у мікроводоростях під час росту культури. [5].

Також було розглянуто різні методи гідролізу, концентрування та очищення білку мікроводоростей, та обрано ті, що мають найбільше переваг та можуть бути використані у промисловості.

Результати та обговорення. Було встановлено, що вміст білка, вуглеводів і ліпідів залишався стабільним при інтенсивності світла від 14-28 Вт·м^2 і найбільше зростання та накопичення білку (~55±5%) у *Scenedesmus obliquus* було виявлено при 32 Вт·м^2. Це можна пояснити зниженням ефективності фотосинтезу за низької та надто високої інтенсивності освітлення.

Швидкість росту *S. Obliquus* збільшилася, і клітини досягли максимальної концентрації біомаси (0,57 г/л) при 25℃. При 20℃ та 35℃ мікроводорості мали майже однакову щільність (~0,4 г/л). Це доводить, що інтенсивність росту мікроводоростей збільшується до певного значення температури, після якого вона зменшується при будь-якому подальшому підвищенні чи пониженні температури [6].

Окрім того, вміст білків, вуглеводів та ліпідів дещо змінювався за різних температур. Так, за температур від 20℃ до 35℃, вміст білків у *S. obiquus* спочатку зростав, а потім знижувався, і максимальний їх вміст (~55±5%) був отриманий при 25 ℃. При температурі вище та нижче 25 ℃ вміст білків зменшувався, що пояснюється зниженням активності ферментів, що приймають участь у фотосинтезі [6].

За pH 5 мікроводорості росли повільно, а швидкість росту *S. obliquus* зростала зі збільшенням значення pH до 11. Кислі умови викликають інгібування ферментів, що беруть участь у фотосинтезі, що призводить до зміни поглинання поживних речовин і, таким чином, впливає на ріст мікроводоростей. Зі збільшенням початкового значення pH концентрація біомаси зростала. Максимальна концентрація біомаси становила 0,65 г/л при pH 10 [6].

Коли pH становив 5 і 6, вміст білка коливався в межах 54±5%. Вміст білка поступово збільшувався в експоненціальній фазі росту і зменшувався під час

стаціонарної фази в нейтральному та лужному середовищах. При pH 10 вміст білка досягав максимуму - 55,26±5% [6].

Криві накопичення білку мікроводоростями *S. obliquus* в залежності від температури, pH та інтенсивності освітлення наведено на рис. 1 (А-В).

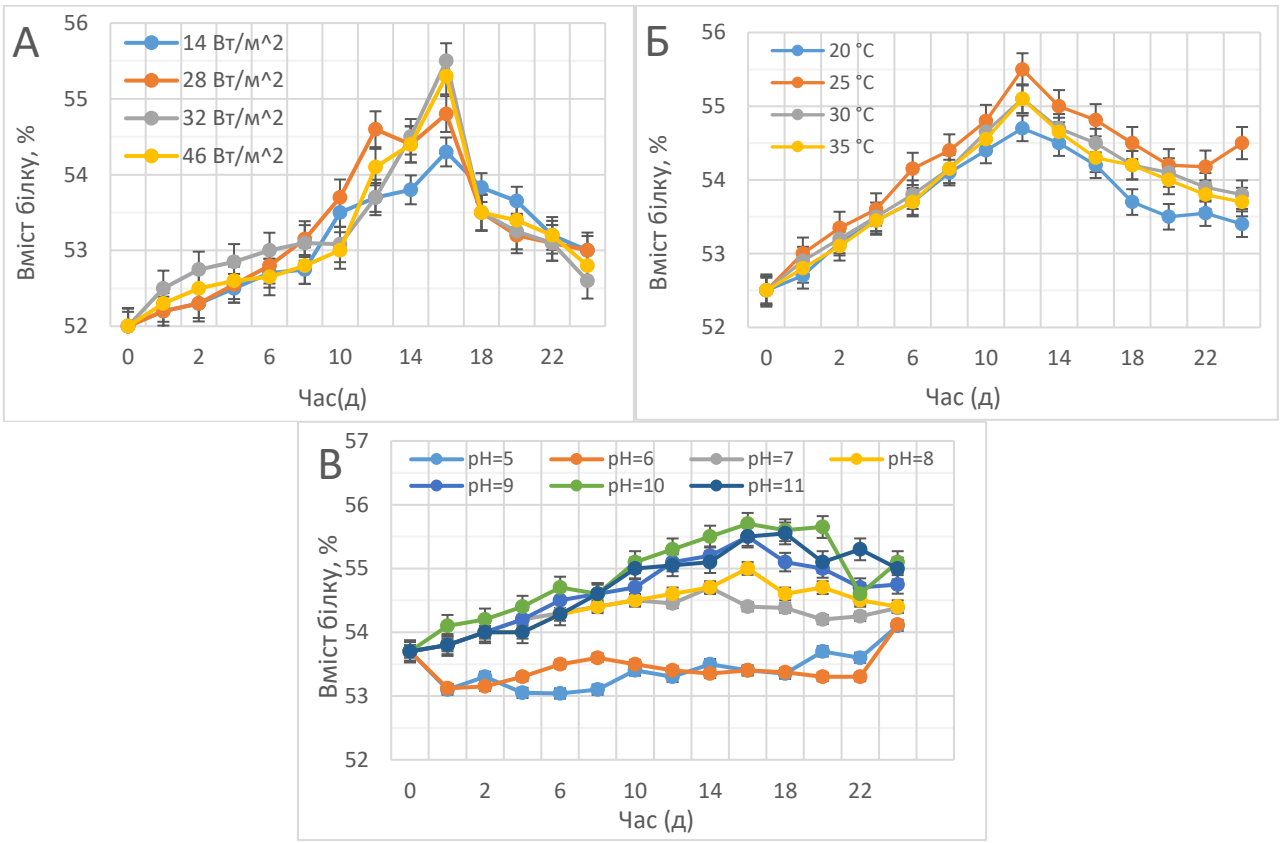


Рис. 1 –накопичення білку водоростями *Scenedesmus obliquus* в залежності від: А – інтенсивності світла; Б – температури; В – pH [6].

Для отримання білкових гідролізатів був обраний ферментативний гідроліз, адже на відміну від лужного або кислотного, він є більш селективним у розщепленні специфічних пептидних зв'язків у білках, що призводить до виробництва пептидних фракцій зі специфічними функціональними або поживними властивостями. Вихід білку за такого методу наближається до 90% від початково накопиченої кількості [7].

Як метод концентрування та очищення гідролізатів було обрано ультрафільтрацію, адже цей метод дозволяє сумістити наведені два етапи та не потребує додаткових маніпуляцій, як очищення від реагента при осадженні гідролізатів. Вихід білку на цій стадії 70% від початкової, на відміну від 40% за використання інших методів [7].

Висновки. В даній роботі було встановлено, що:

Раціональна інтенсивність світла для накопичення білку мікроводростями *Scenedesmus obliquus* є 32 Вт·м^2 за якої було накопичено 55,3% білку, оскільки за нижчої інтенсивності зменшується ріст водростей, а за більшої – зменшується накопичення білку. Освітлення при цьому варто здійснювати LED

світильниками зі світлодіодами червоного (630 нм) та синього (465 нм) у співвідношенні 1:1 за схемою 12 годин світла, 12 годин темряви

Доцільною температурою для накопичення білку мікроводоростями *S. obliquus* є 25 °С за якої було накопичено 55,1±5% білку, адже за вищих та нижчих температур знижується інтенсивність росту та накопичення білку водоростями.

Раціональне значення pH для отримання білку є pH = 10 за якого було накопичено 55,26±5% білку, адже за кислих умов знижується ефективність фотосинтезу, а за більш лужних умов зменшується кількість накопиченого білку.

Список використаної літератури:

1. Caporgno, M.P.; Mathys, A. Trends in Microalgae Incorporation into Innovative Food Products with Potential Health Benefits. Front. Nutr. 2018, 5, 58;
2. Becker, E. W., 2004. The nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Richmond, A. (Ed). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Publishing Ltd: 380-291
3. Pavel Přibyl, Vladislav Cepák, Petr Kaštánek, Vilém Zachleder, Elevated production of carotenoids by a new isolate of Scenedesmus sp., Algal Research, Volume 11, 2015, Pages 22-27, ISSN 2211-9264, https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.05.020;
4. Park, C., Kim, S., & Jin, E. (2021). Comparative analysis of the economic feasibility of open ponds and photobioreactors for large-scale microalgae cultivation. Algal Research, 57, 102468. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102468;
5. Перспективи використання мікроводоростей у біотехнології / О.К. Золотарьова, Є.І. Шнюкова, О.О.Сиваш, Н.Ф. Михайленко; пфд редак. О.К. Золотарьової. – К.: Альтерпрес, 2008. – 234 С;
6. Optimization for Scenedesmus obliquus Cultivation: the Effects of Temperature, Light Intensity and pH on Growth and Biochemical Composition. Yonggang Zhang, Li Ren, Huaqiang Chu, Xuefei Zhou, Tianming Yao and Yalei Zhang. Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 61:12, 1976-2002, DOI: 10.1080/10408398.2020.1768046;
7. Matheus Lopes Amorim, Jimmy Soares, Jane Sélia dos Reis Coimbra, Mauricio de Oliveira Leite, Luiz Fernando Teixeira Albino & Marcio Arêdes Martins (2021) Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 61:12, 1976-2002, DOI: 10.1080/10408398.2020.1768046.

АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕКСТРАКТІВ ГРИБІВ *LENTINULA EDODES* ТА *LYOPHYLLUM SCHIMEJI*

Кізіцька Т.О.[1], Барштейн В.Ю.[1], Бахлуков Д.О.[2], Круподьорова Т.А.[1]
[1]Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», kizitska_t@ukr.net
[2]ТОВ «Есмаш»

Вступ. Останнім часом зростає інтерес до вивчення ролі активних форм кисню у патогенезі хронічних і дегенеративних захворювань серцево-судинної та травної системи, нейродегенеративних, респіраторних та онкологічних захворювань. У деяких клінічних дослідженнях було показано, що прийом антиоксидантів послаблює виснаження власної антиоксидантної системи людського організму, тим самим зменшуючи пов'язані з цим окислювальні пошкодження [1]. Перспективним та актуальним напрямом досліджень є пошук джерел натуральних речовин, які здатні відновлювати антиоксидантно-прооксидантний баланс, та розробка лікарських засобів на їх основі. Біологічно активні сполуки їстівних та лікарських грибів можуть бути використані в якості нутрицевтиків або у функціональному харчуванні для профілактики хронічних захворювань, спричинених окислювальним стресом, та боротьбі з ними [2]. Екстракти грибів мають суттєву антиоксидантну дію на різні радикали. Гриби містять антиоксидантні біологічно активні сполуки, такі як поліфеноли (флавін та флавоноїди), полісахариди, глікозиди, токофероли, аскорбінову кислоту, органічні кислоти та інші сполуки, які проявляють інгібуючий та імунологічний потенціал [3].

Метою нашої роботи було вивчення антиоксидантної активності екстрактів їстівних грибів *Lentinula edodes* та *Lyophyllum schimeji*.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були екстракти плодових тіл *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler та *Lyophyllum shimeji* (Kawam.) Hongo, вирощених на блоках на промисловому виробництві ТОВ «Есмаш» (м. Київ). Екстракти отримували з подрібнених до порошкоподібного стану плодових тіл шляхом екстракції водою та етиловим спиртом (95%) при постійному перемішуванні на орбітальному шейкері (100 об/хв.). Співвідношення сировини та екстрагенту склало 1 г/10 мл, час екстракції – 48 годин за кімнатної температури. Потім екстракти центрифугували протягом 10 хв при 3000 об/хв і збирали супернатанти. Для визначення антирадикальної активності екстрактів використовували реакцію зі стабільним вільним 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил радикалом (DPPH). Поглинання DPPH вимірювали в триразовій повторюваності на спектрофотометрі за 517 нм. Реакційна суміш містила 100 мкл екстракту плодового тіла, з 2,9 мл DPPH-радикала з кінцевою концентрацією 120 мМ. Суміш інтенсивно збовтували й інкубували впродовж 30 хв у темряві за температури 40 °С. Антиоксидантну активність (АОА) встановлювали за ступенем інгібування DPPH-радикала (у відсотках), за зміною оптичної густини досліджуваних зразків. Воду та етиловий спирт використовували як контроль.

Результати та обговорення. Вихід метаболітів різної хімічної природи при екстракції грибів значно варіює як від застосування різних протоколів виділення

речовин, так і від виду гриба. Відомо, що екстракція розчинниками, зокрема водою, етиловим чи метиловим спиртом, етилацетатом, є одним з найпоширеніших методів виділення біологічно активних речовин із грибної сировини. Разом з цим, більшість поліфенолів у природі водорозчинні. Враховуючи вищезазначене, для екстракції було обрано саме воду та етиловий спирт. Всі досліджені екстракти проявили АОА, проте її рівень варіював від 9,1 до 92,1 % залежно від обраного екстрагента, а також від виду гриба (рис. 1). Високий рівень АОА встановлено для водних екстрактів обох досліджуваних видів грибів. Антиоксиданти, які містяться у спиртових екстрактах *L. edodes* та *L. schimeji*, здатні знижувати рівень DPPH-радикала з фіолетового кольору на нерадикальну форму, що візуально обумовлює появу жовтого кольору. Наші результати узгоджуються з даними інших аналогічних досліджень інактивації вільних радикалів під дією екстрактів плодових тіл *L. edodes* та *L. shimeji* [4].

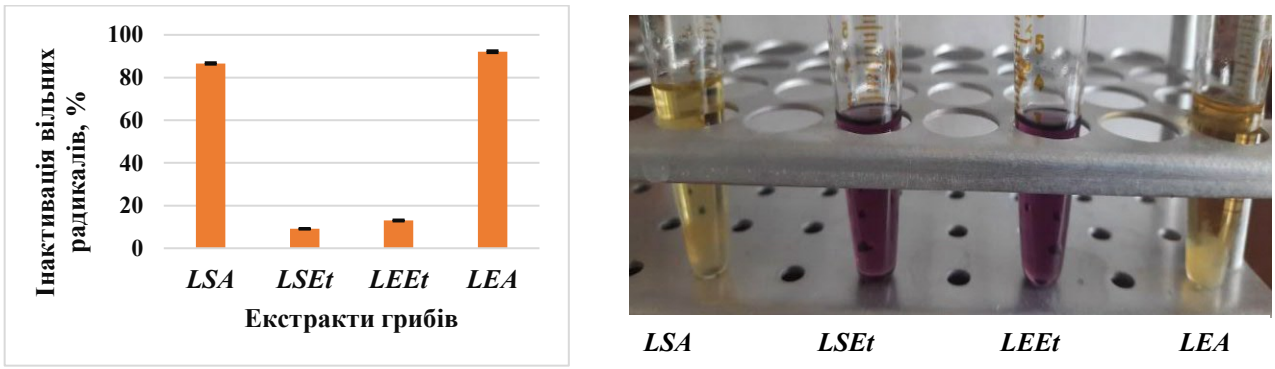


Рис. 1. Антиоксидантна активність екстрактів грибів: *L. schimeji* (LSA – водний та LSEt – спиртовий екстракти) і *L. edodes* (LEA – водний та LEEt – спиртовий екстракти)

Висновки. Водні екстракти плодових тіл *L. edodes* та *L. schimeji* містять високий рівень антиоксидантів, вірогідно, поліфенолів та/або аскорбінової кислоти та вітамінів групи В, і можуть бути використані в якості нутрицевтиків чи як природній інгредієнт у функціональному харчуванні для профілактики хронічних захворювань, спричинених окислювальним стресом, та боротьби з ними.

Список використаної літератури:

1. Liu Z, Ren Z, Zhang J, et al. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. Front Physiol. 2018; 9(477):1-14.

2. Valverde M. E., Hernández-Pérez T., Paredes-López O. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. International Journal of Microbiology 2015; 10.1155/2015/376387

3. Mwangi RW, Macharia JM, Wagara IN, Bence RL. The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms. Biomed Pharmacother. 2022; 147:112621.

4. Antunes PI, Erpen-Dalla Corte L, Bueno Jcm, et al. Firmness and biochemical composition of Shitake and Shimeji commercialized in natura and consumers' opinion survey. Horticultura Brasileira 2021; 39: 425-431.

РІСТ ПОЛІСИМБІОТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ *ORYZAMYCES INDICI* НА ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ З ДОДАВАННЯМ РІЗНИХ ФРУКТОВИХ ДОБАВОК

Ковальницька К. О., Масалітіна Н. Ю.
Національний технічний університет «ХПІ»
kateryna.kovalnytska@ihti.khpi.edu.ua

Вступ. Нині одним із пріоритетних напрямів у безалкогольній галузі є створення нових безалкогольних напоїв, збагачених біологічно активними інгредієнтами. Особливої значущості набувають ферментовані безалкогольні напої, що є субстратами рослинного походження і збагачені метаболітами мікробіологічного біокомплексу. Це зумовлено тим, що в ході процесів бродіння утворюється ціла низка біологічно активних речовин (вітаміни, амінокислоти, органічні кислоти, мінеральні речовини та ін.), необхідних для нормального функціонування організму людини, що в результаті надає напоям підвищену біологічну цінність та лікувально-профілактичні властивості.

Одним з досліджуваних нетрадиційних джерел бродіння є природна біокультура мікроорганізмів *Oruzamyces indici*, відома під тривіальною назвою рисовий гриб. Рисовий гриб (асоціативний консорціум мікроорганізмів різних таксономічних груп) представляє собою прозорі желеподібні гранули різного розміру, що нагадують за формою рисові зерна.

Для розширення асортименту напоїв бродіння та збагачення їх складу додатковим комплексом цінних біологічно активних речовин представляло інтерес дослідити вплив різних натуральних інгредієнтів на метаболізм *Oruzamyces indici* та запропонувати удосконалення технології нового ферментованого безалкогольного напою з підвищеною біологічною цінністю [2]. Метою роботи було встановлення динаміки росту полісимбіотичної культури при додаванні різних фруктових добавок і визначення оптимальних умов культивування для стимулювання найбільш ефективного процесу накопичення біомаси.

Матеріали та методи. Поліасоціативна культура рисового гриба *Oryzamyces indici,* яка представляє собою сукупність молочнокислих, оцтовокислих бактерій та дріжджів, продукує в ході своєї життєдіяльності широкий спектр біологічно цінних речовин [1]. Для культивування використовувалось рідке поживне середовище з додаванням цукру та рослинної добавки – сушеного винограду, інжиру або сушеного банану. Приріст біомаси визначали за допомогою гравіметричного аналізу – методу кількісного хімічного аналізу, який базується на точному вимірюванні маси речовини або її складових частин. Використовуючи аналітичні ваги, проводили вимірювання маси кожного екземпляру рисового гриба.

Результати та обговорення. Вирощування культури рисового гриба на різних поживних середовищах проводилося протягом місяця та встановлено, що динаміка його росту різниться в залежності від обраного джерела рослинної добавки. Результати дослідження, що наведені на рисунку 1 (динаміка росту

рисових грибів протягом тижня та динаміка росту протягом місяця), показали, що найбільш доцільною добавкою є сушені плоди інжиру.

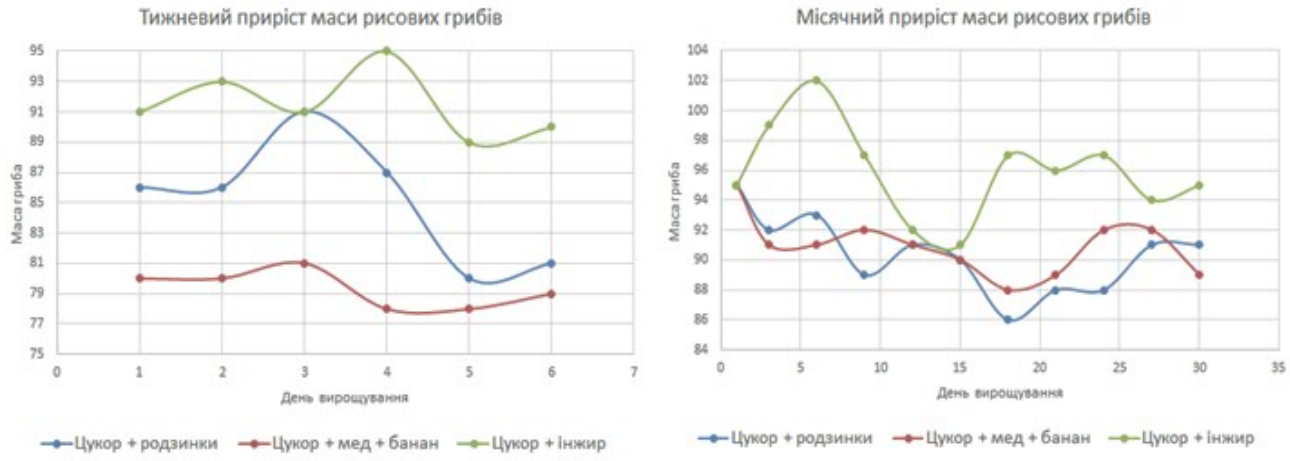


Рис. 1. Динаміка росту рисових грибів протягом тижня та протягом місяця

Встановлено, що вид фруктової добавки впливає на динаміку росту *Oryzamyces indici,* органолептичні та хімічні показники фінального напою. При використанні культурального середовища з додаванням сушеного інжиру спостерігався найбільший приріст ваги як для тижневого періоду вирощування, так і при тривалішому культивуванні протягом місяця.

Висновки. За результатами проведених досліджень нами було визначено найбільш оптимальне поживне середовище для вирощування *Oryzamyces indici,* а саме збалансоване сахарозовмісне середовище, що включає сушений інжир як рослинну добавку.

Проведені дослідження дозволять запропонувати удосконалення біотехнології виробництва продуктів бродіння з підвищеною біологічною цінністю, розширити їх асортимент, що буде сприяти підвищенню конкурентоспроможності вітчизняної безалкогольної продукції функціонального призначення на світовому ринку.

Список використаної літератури:

1. Домарецький В.А. Технологія екстрактів, концентратів і напоїв із рослинної сировини / В.А. Домарецький, В.Л. Прибильський, М.Г. Михайлов /За редакцією В.А. Домарецького. – Вінниця.: Нова Книга, 2005. – 408 с.

2. Романова О. Д. Лекарственные грибы: индийский морской рис, тибетский молочный гриб, грибы рейши, мейтаке и шиитаке, чага/О. Д. Романова. – Запоріжжя:Вектор, 2008.– 96 с.

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОСУХОСТІЙКОСТІ РОСЛИН ТОМАТУ

Ковбасенко Р.В.
Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України
rayasenko@ukr.net

Вступ. Посуха – несприятливе поєднання метеорологічних умов, що характеризується досить тривалим та значним зниженням кількості опадів, частіше усього при підвищеній температурі та зниженій вологості повітря, при яких рослини відчувають водний дефіцит [1]. Системи адаптації рослин на клітинному рівні стійкості зв'язані із нагромадженням певних метаболітів і можливо, із тонкою організацією внутрішньоклітинних структур. Загально визнаними механізмами клітинної адаптації є зростання коцентрації проліну як реакції відповіді на несприятливі дії, стресові білки, водоутримування за рахунок колоїдів цитоплазми та підвищення синтезу білка на полірибосомах [2]. Відносна простота біохімічних механізмів та значний набір робіт по біохімічній генетиці робить клітинний рівень адаптації рослин найбільш доступним для генетичного вивчення [3].

Матеріали та методи. Для вивчення впливу маніту на нагромадження проліну у калюсних культурах томату на живильних середовищах індукували калюсогенез різних сортів. Вміст вільного проліну визначали за сертифікованою методикою [4].

Результати та обговорення. Вирішення проблеми стрес-стійкості проти досить тривалого водного дефіциту вимагає створення нових біотехнологічних методів. Досить перспективним напрямком є клітинна селекція із використанням іонів важких металів. Клітинні лінії, відібрані на селективних середовищах і їх рослини-регенеранти відзначалися комплексною стійкістю [5]. У процесі роботи визначали вміст вільного проліну у клітинних культур і рослин томату при культивуванні на середовищах із летальними дозами маніту (таблиця).

Одержання стійких проти осмотичного стресу калюсних культур рослин методом прямої клітинної селекції, безсумнівно, відкриває досить широкі перспективи для удосконалення селекційної роботи по створенню сортів, толерантних проти несприятливих факторів оточуючого середовища [6].

Із метою добору методом клітинної селекції толерантних проти кількох абіотичних стресів рослин кукурудзи апробовано 2 селективних агенти – ПЕГ і маніт. Показано, що селективна система із манітом є більш ефективною, так як забезпечує більш повну елімінацію чутливих клітин та більш високу життєздатність рослин-регенерантів. При проведенні селекції *in vitro* пшениці на стійкість проти водного дефіциту із використанням двох селективних агентів – ПЕГ і маніту показано, що селективна система із манітом більш ефективна, тому що забезпечує більш повну елімінацію чутливих клітин та більш високу життєздатність рослин-регенерантів [7].

Таблиця 1. Вплив маніту на вміст вільного проліну

Сорт	Вміст вільного проліну у калюсах томату (у мкмоль/г сирої маси):	
	контроль	селективне середовище
Лагідний	4,6 ± 0,4	10,4 ± 0,2
Боян	4,7 ± 0,4	10,7 ± 0,2
Хорів	4,8 ± 0,4	10,8 ± 0,1
Бобрицький	4,8 ± 0,3	10,9 ± 0,1
Борівський	4,7 ± 0,3	10,6 ± 0,2
Флора	4,4 ± 0,5	10,2 ± 0,2
Зорень	4,5 ± 0,5	10,3 ± 0,2

Висновки. Селективне агаризоване середовище із додаванням маніту, вміст якого є одним із механізмів посухостійкості культурних рослин, сприяє добору толерантних проти посухи індивідуумів.

В умовах водного дефіциту, тобто посухи, рослини томату із високим вмістом проліну більш адаптовані до зневоднення. Цілком ймовірно, що захисні реакції рослин спрямовані на включення генів синтезу проліну, а адаптаційний процес – на перебудову фізіолого-біохімічних механізмів та зміну процесів осморегуляції.

Механізми адаптації вивчених сортів томату проти посухи, як і механізми відновлення метаболізму після регідратації, були різні. Однією із причин вищої стійкості сортів томату, порівняно із контролем, міг бути більш високий вміст розчинних цукрів і проліну у листках контрольних рослин томату.

Пролін підвищує життєздатність рослин та ізольованих клітин при стресових стадіях адаптаційного процесу. При цьому відносний вклад протекторної, осморегуляторної та інших функцій проліну можуть змінюватися в залежності від онтогенетичного стану рослин, природи, інтенсивності та тривалості дії стресору.

Список використаної літератури:

1. Hughes M. A., Dunn M. A. The molecular biology of plant acclimation to low temperature. Journal of Experimental Botanik. 1996; 47(296):291-305.
2. Самсонов С. К. I Всесоюзный симпозиум «Стрессовые белки растений». Сельскохозяйственная биология. 1988. № 4. С. 134-136.
3. Kueh J. S. H., Bright S. W. J. Biochevical and genetical analisis of three prolin accumulating barley mutants // Plant Science Lett. 1982. Vol. 27, No 2. P. 233-241.
4. Bates L. S., Waldeen R. P., Teare I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies / Plant Soil. 1973. V. 39, № 1. P. 205-207.
5. Ковбасенко Р. В. Клітинна селекція рослин на стійкість проти стресів. Київ. 2021. 452 с.
6. Сидоров В. А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. Киев.: Наукова думка. 1990. 280 с.
7. Дубровна О. В., Моргун Б. В., Бавол А. В. Біотехнології пшениці: клітинна селекція та генетична інженерія. Київ.: Логос, 2014. 375 с.

DUNALIELLA VIRIDIS ЯК ДЖЕРЕЛО ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ІЗ АНТИМІКРОБНОЮ АКТИВНІСТЮ

Козак А.-М. Р., Чебан Л.М.
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
l.cheban@chnu.edu.ua

Вступ. *Dunaliella viridis* - мікроводорість відділу *Chlorophyta*, яка демонструє дивовижний ступінь адаптації до солоності, температури, концентрації нітрогену та інтенсивності освітлення. Ці характеристики роблять вид ідеальним кандидатом у якості модельного організму. Біомаса дуналіелли здатна синтезувати велику кількість біологічно активних сполук, в тому числі й фенольні сполуки. Висока антибактеріальна та антиоксидантна активність поліфенольних сполук водоростей є перспективною основою для розробки інноваційних препаратів. Вони можуть бути як важливою альтернативою традиційним протимікробним препаратам, так і ефективними доповненнями до антибіотикотерапії.

На сьогодні механізми антибактеріальної дії фенольних сполук не до кінця розшифровані. Однак, потенційно антимікробна активність поліфенолів може бути зумовлена зміною проникності клітинної мембрани бактерій, змінами різних внутрішньоклітинних функцій, викликаними водневими зв'язками фенольних сполук з ферментами, або ж втратою цілісності через зміни жорсткої клітинної стінки внаслідок різних взаємодій поліфенолів з клітинною мембраною [1-3]. Все це дає підстави розглядати фенольні сполуки водоростевого походження в якості потенційний антимікробних сполук.

Метою роботи був аналіз фенольних сполук *Dunaliella viridis* Teodor. як потенційних антимікробних сполук.

Матеріали та методи. У роботі використовували музейну альгологічно чисту культуру *Dunaliella viridis* Teodor., що підтримується в колекції Навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів ЧНУ. Мікроводорість культивували на класичному середовищі Артарі за температури 24±2 °С протягом 14 діб, в умовах культиваційної кімнати. Для приготування екстракту біомаси відбирали культуральне середовище із клітинами водоростей, центрифугували, зливали супернатант, до біомаси додавали 40%-й розчин етанолу. Якісне і кількісне визначення фенольних сполук проводили спектрофотометричним методом, для розрахунків використовували показники оптичної активності стандартних розчинів рутину та хлорогенової кислоти.

Для встановлення протимікробної активності методом дифузії в агар були використані такі тест-культури мікроорганізмів: *Bacillus subtilis* і *Sarcina flava* (Gr+), *Microcystis pulverea* (Gr-), *Rhodotorula rubra* (еукаріот).

Результати та обговорення. УФ-спектри спиртових екстрактів та культуральної рідини *D. viridis* підтверджують наявність різних груп фенольних сполук. У спиртовому екстракті було виявлено кумарини, оксикоричні кислоти, лактони, азулени та флавоноїди, зокрема флавони, халкони, ізофлавони, флавонони та ін. У культуральній рідину також виявлено наявність кумаринів.

При проведенні кількісного аналізу було визначено кількість поліфенольних сполук у біомасі на рівні 9 мг/г, що в 1,5 разів перевищує їх кількість у культуральній рідині (рис. 1). Вміст флавоноїдів у біомасі встановлений на рівні 3,6 мг/г, тоді як у культуральній рідині близько 2,3 мг/г. Вміст гідроксикоричних кислот у біомасі перевищував у 2 рази такий у культуральній рідині і становив 0,83 мг/г.

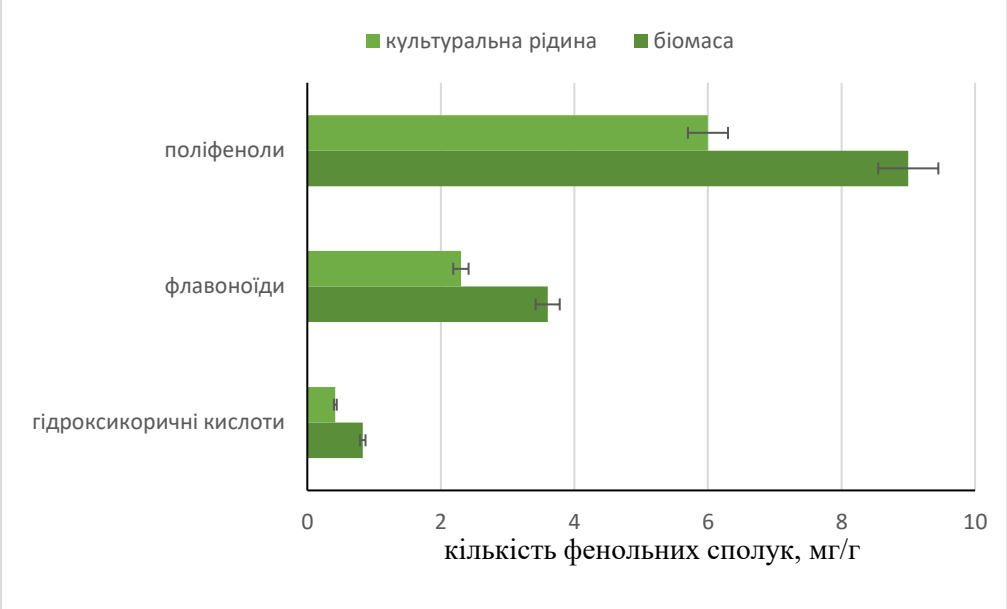


Рис. 1. Фенольні сполуки культуральної рідини та біомаси *Dunaliella viridis*

При проведенні скринінгу антимікробної активності було встановлено, що чутливість мікроорганізмів до фенольних сполук *Dunaliella viridis* залежить від будови клітинної стінки тест-культур. Культуральна рідина проявляла найбільшу протимікробну активність щодо *Sarcina flava* та *Rhodotorula rubra* – 16,9 мм та 13,3 мм відповідно. Екстракт біомаси викликав найбільші зони затримки росту з *Sarcina flava*, діаметр зон становив 25 мм.

Висновки. Отже, у культуральній рідині та біомасі *Dunaliella viridis* міститься різні фенольні сполуки, які в тій чи іншій мірі здатні пригнічувати ріст тест-культур мікроорганізмів. Біомасу або екстракт біомаси *Dunaliella viridis* можна використати у якості харчової чи кормової добавки задля надання введення до раціону біологічно активних сполук фенольної природи.

Список використаної літератури:

1. Besednova N. N., Andryukov B. G., Zaporozhets T. S., Kryzhanovsky S. P., Kuznetsova T. A., Fedyanina L. N., Zvyagintseva T. N. Algae Polyphenolic Compounds and Modern Antibacterial Strategies: Current Achievements and Immediate Prospects. *Biomedicines*. 2020. Vol. 8(9). P. 342-361.

2. Cichoński J.; Chrzanowski G. Microalgae as a Source of Valuable Phenolic Compounds and Carotenoids. *Molecules.* 2022. Vol. *27.* P. 8852-8873.

3. Pina-Pérez M. C., Rivas A., Martínez A., Rodrigo D. Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. *Food Chemistry*. 2017. Vol. 235. P. 34–44.

ВПЛИВ СИНТЕТИЧНОГО ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОЇДУ НА ОКРЕМІ ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ МИШЕЙ

Колодій К. О., Громнадська М. О., Громнадська О. О.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, kseniyakolodiy37@mail.com

Вступ. Хоча існує багато класів синтетичних глюкокортикостероїдів, дексаметазон є найбільш широко використовуваним. Він має довший період напіврозпаду та вищу спорідненість до глюкокортикоїдних рецепторів, ніж кортизол або інші синтетичні варіанти кортикостероїдів, і, як відомо, має імуносупресивну дію [1].

На сьогодні глюкокортикостероїди активно використовуються при лікуванні різноманітних захворювань, проте їх тривале застосування призводить до багатьох побічних ефектів, механізми розвитку яких залишаються недостатньо вивченими.

Метою роботи було дослідження впливу синтетичного глюкокортикостероїду – дексаметазону, на окремі гематологічні показники периферичної крові мишей.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували периферичну кров мишей лінії C57BL/6. Тварини були розділені на дві групи: контрольну та експериментальну. Тваринам експериментальної групи вводили 0,1 мл розчину дексаметазону у дозуванні 3 мг/мл. Тваринам контрольної групи вводили 0,1 мл 0,9 % розчину натрію хлориду. Окремі гематологічні показники периферичної крові мишей оцінювали через 4 та 24 години після введення синтетичного глюкокортикостероїду.

Кількість лейкоцитів та еритроцитів визначали гематологічними методами. Мазки периферичної крові мишей фарбували за Романовським – Гімзою та вели підрахунок формених елементів крові за допомогою мікроскопу [2].

Усі експерименти проводилися відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами (1994)», схваленими Першим національним конгресом з біоетики (20 вересня 2001 р. Київ, Україна).

Результати та обговорення. Відомо, що синтетичні глюкокортикостероїди здатні пригнічувати функції лейкоцитів та обмежувати міграцію лейкоцитів в область запалення [3].

Було встановлено, що через 4 години після введення мишам дексаметазону в дозуванні 3 мг/мл спостерігається розвиток лейкоцитопенії. Проте впродовж 24 годин після введення синтетичного глюкокортикостероїду спостерігається часткове відновлення кількості лейкоцитів у периферичній крові мишей (рис. 1).

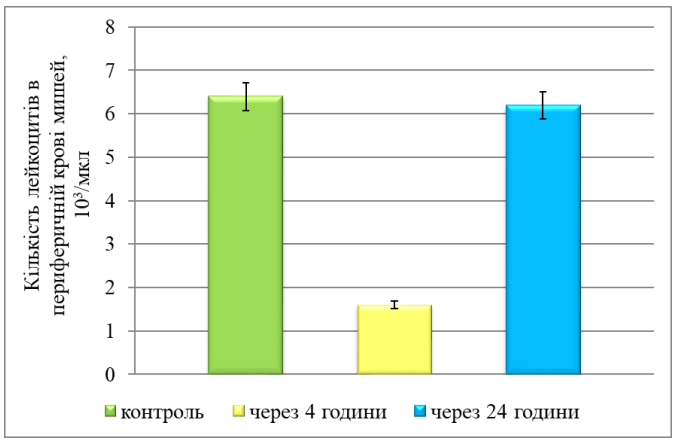


Рис. 1. Кількість лейкоцитів у периферичній крові мишей

З рисунку 1 видно, що через 4 години після введення дексаметазону кількість лейкоцитів зменшується в 4 рази у порівнянні з контролем. Проте через 24 години після введення синтетичного глюкокортикостероїду кількість лейкоцитів практично відновлюється.

Вплив дексаметазону в дозуванні 3 мг/мл на кількість еритроцитів у периферичній крові мишей показано на рисунку 2.

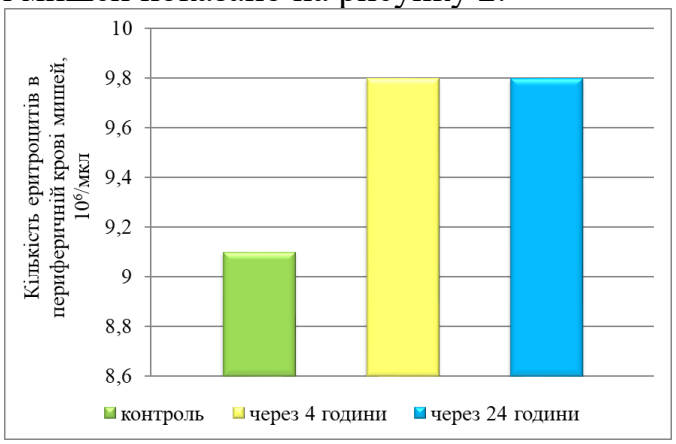


Рис. 2. Кількість еритроцитів у периферичній крові мишей

Через 4 години після введення мишам дексаметазону в дозуванні 3 мг/мл спостерігається підвищення кількісті еритроцитів у периферичній крові мишей, яке утримується протягом 24 годин.

Висновки. Результати досліджень впливу синтетичного глюкокортикостероїду – дексаметазону, на гематологічні показники периферичної крові мишей свідчать, що введення дексаметазону призводить до значного зменшення кількості лейкоцитів в периферичній крові мишей у перші години, яке реалізується шляхом індукції апоптозу. Проте впродовж 24 годин спостерігається відновлення клітинного складу периферичної крові мишей, ймовірно, в результаті перерозподілу клітин.

Список використаної літератури:

1. Aston W. J., Hope D. E., Cook A. M. et al. Dexamethasone differentially depletes tumour and peripheral blood lymphocytes and can impact the efficacy of chemotherapy/checkpoint blockade combination treatment. *OncoImmunology*. 2019. Vol. 8., No. 11. e1641390.

2. Практична мікробіологія: посібник / Климнюк С. І., Ситник І. О., Творко М. С., Широбоков В. П. Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. 440 с.

3. Cain D. W., Cidlowski J. A. Immune regulation by glucocorticoids. *Nature Reviews Immunology*. 2017. Vol. 17, No. 4. P. 233-247.

ОТРИМАННЯ ТРАНСГЕННИХ КОРЕНІВ *S. ALTISSIMA* L. ТА *S. ALBIDA* L. ДЛЯ НАКОПИЧЕННЯ ВИСОКОГО ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ

Кощавко К.С. [1], Лучаківська Ю.С. [1,2], Коваль І.В. [3]

[1] Київський Палац дітей та юнацтва, kseniako05@gmail.com

[2] Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

[3] Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України

Біохімічні дослідження лікарських рослин, які є джерелом комплексу цінних біологічно активних сполук, є одним з етапів пошуку перспективних видів і визначення можливостей їх практичного використання є дослідження хімічного складу.

У пошуках нових джерел сировини з фармакологічними властивостями активно досліджуються рослини роду *Scutellaria* L. [1, 2]. Останні широко застосовуються в народній медицині завдяки високому вмісту флавоноїдів, дубильних речовин та характеризуються протипухлинними, противовірусними, протизапальними, антиоксидантними, антибактеріальними властивостями.

Зважаючи на літературні дані щодо високого вмісту флавоноїдів у коренях рослин роду *Scutellaria* L.[3], нас зацікавила можливість отримання та біохімічний аналіз екстрактів культури трансгенних коренів шоломниці, адже це б дозволило збільшити об'єми біомаси, яка може бути використана в якості лікарської сировини.

Метою нашої роботи було отримати культуру трансгенних коренів видів *S. albida* та *S. altissima* та проаналізувати вміст флавоноїдів у екстрактах отриманих культур.

Рослини шоломниці вводили в культуру *in vitro* шляхом поверхневої стерилізації насіння двох видів роду *Scutellaria* L. (*S. albida*, *S. altissima*). Рослини культивували при кімнатній температурі, 16-годинному фотоперіоді на живильному середовищі Мурасіге – Скуга [4]. Для подальшої генетичної трансформації використовували рослини віком від 6 до 12 тижнів.

Для отримання культури трансгенних коренів використовували агропіновий штам А4 *Agrobacterium rhizogenes*. Нічну бактеріальну суспензійну культуру отриману у рідкому живильному середовищі LB на термошейкері (200об./хв.), центрифугували протягом 10 хв. (4000об./хв.), надалі осад ресуспендували у рідкому живильному середовищі MS з додаванням100 мкМ ацетосирингона. Рослинні експланти *S. albida* та *S. altissima* культивували з бактеріальною суспензією на орбітальному шейкері (150об./хв.), протягом 48 годин при 28°С. В подальшому експланти переносили на агаризоване живильнесередовище MS з додаванням 400 мг/л антибіотику цефотаксиму для елімінації бактерій. Через три тижні після трансформації спостерігали утворення коренів на рослинних експлантах *S. altissima*, що характеризувалися Ri-фенотипом (швидким ростом, відсутністю геотропізму та характерною опушеністю) (рис. 1.). На експлантах рослин *S. albida* коренеутворення не спостерігалося.

Рис. 1. Ініціація коренетворення на гіпокотильних експлантах *S. altissima*

Для підтвердження трансгенної природи отриманих кореневих культур проводили молекулярно-генетичний аналіз за допомогою методу ПЛР (розмір фрагменту 780 п.н., нуклеотидна послідовність праймерів: 5'-atggatcccaaattgctattccttccacga-3', 5'-ttaggcttctttcttcaggtttactgcagc-3') (рис. 2.).

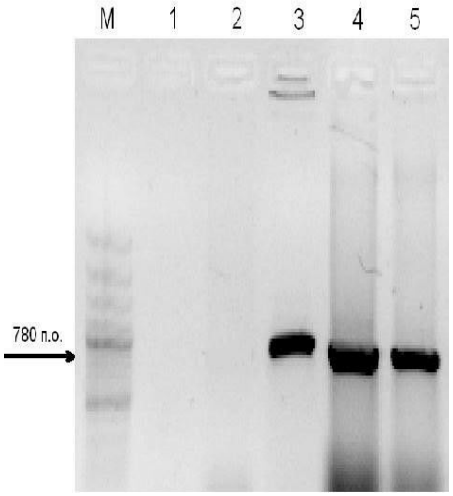


Рис. 2. Електрофореграма ПЛР-аналізу на присутність *rolB* гену (б): М– Маркер (1 kb Plus DNALadder, Fermentas), 1 – негативний контроль (проба без ДНК), 2 – негативний контроль (ДНК не трансформованої рослини), 3 – позитивний контроль (плазмідна ДНК (А4)), 4-5 – ДНК аналізованих зразків культури „бородатих" коренів

ПЛР-аналіз дозволив виявити присутність агробактеріального *rolB* гену, що підтверджує трансгенну природу отриманої кореневої культури.

Для визначення вмісту флавоноїдів у культурі трансгенних коренів та коренів інтактних рослин використовували спектрофотометричний метод з перерахунком на рутин, основою якого є властивість флавоноїдів утворювати забарвлений комплекс із спиртовим розчином хлориду алюмінію[5] (рис. 3.).

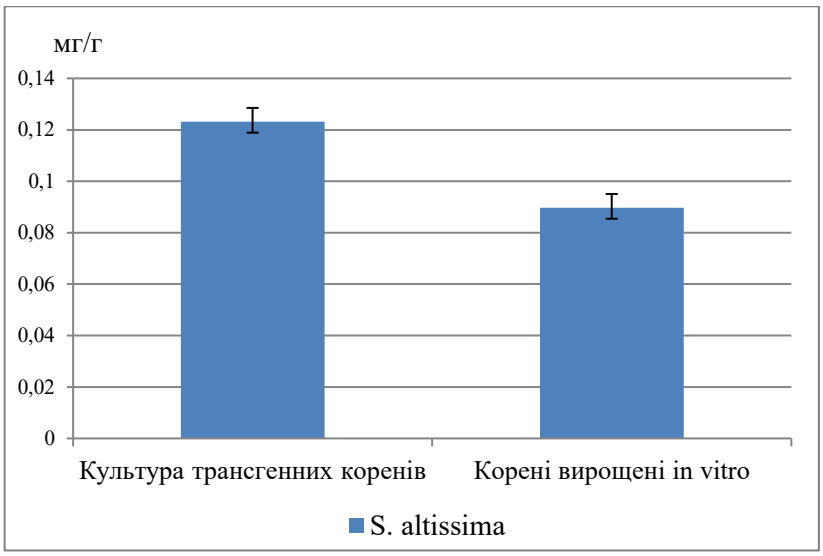


Рис.3. Вміст флавоноїдів в екстрактах трансгенних коренів та коренів рослин, вирощених в умовах *in vitro*

Виявлено достовірно більш високий вміст флавоноїдів для культури Ri-коренів, ніж для коренів рослин вирощених в умовах *in vitro* виду *S. altissima*.

Таким чином, отримані нами дані дозволяють зробити висновок, що фармакологічно перспективною можна вважати культуру трансгенних коренів виду *Scutellaria altissima* L., що характеризувалася високим вмістом флавоноїдів.

Список використаної літератури:

1. Cole IB *et al.* Comparisons of *Scutellaria baicalensis*, *Scutellaria lateriflora* and *Scutellaria racemosa*: genome size, antioxidant potential and phytochemistry. Planta Med. 2008. Mar. Vol.74, No.4. P. 474-481.

2. Гусєва О. О. Морфогенез видів роду *Scutellaria* L. та структура їх ценопопуляцій у Сибірі. Новосибірськ, 2019. С. 234.

3. Nurul Islam M., Downey F. & Ng C.K.Y. Comparative analysis of bioactive phytochemicals from *Scutellaria baicalensis*, *Scutellaria lateriflora*, *Scutellaria racemosa*, *Scutellaria tomentosa* and *Scutellaria wrightii* by LC-DAD-MS. Metabolomics **7**. 2011. P.446–453.

4. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol.Plant. 1962, Vol.15(3). P. 473–97.

5. *Pękal, A., Pyrzynska, K.* Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. Food Analytical Methods. – 2014, Vol.7. P. 1776–1782.

ЗАСТОСУВАННЯ РНК-ІНТЕРФЕРЕНЦІЇ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ НЕВРОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Країло О. О., Прозор А. В., Голембіовська О. І.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, krailo-bf11@lll.kpi.ua
prozor-bf11@lll.kpi.ua

Вступ. РНК-інтерференція (RNAi) полягає в посттранскрипційному механізмі пригнічення генів, який запускається дволанцюговою РНК (dsRNA). Після відкриття цього явища у 1998 році вчені почали шукати йому застосування в медицині. Властивості малих інтерферуючих РНК (siRNA) значно допомагають у вивченні функціональної геноміки, дослідженні мішеней для ліків і навіть лікуванні захворювань людини. Методи РНК-інтерференції надають декілька основних переваг для пригнічення експресії генів. Останні дослідження показують, що технологія РНК-інтерференції є перспективною для лікування різних захворювань, адже здатність вибірково антагонізувати або усувати функцію окремих білків може мати дуже широке застосування. Отже, можна припустити, що дані методи можуть знайти своє застосування і в неврології. Тому, дана робота має за мету проаналізувати роботи вчених з використанням РНК-інтерференції для дослідження та лікування неврологічних захворювань, зокрема нейродегенеративних.

Матеріали та методи. Аналітичний огляд літератури з обраного питання.

Результати та обговорення. Хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, хвороба Гентінгтона та бічний аміотрофічний склероз є прикладами відносно поширених нейродегенеративних розладів. Кожен з цих розладів характеризується дисфункцією та загибеллю певних популяцій нейронів. За це відповідають визначені генетичні мутації. Дослідження пацієнтів, моделей тварин і клітинних культур кожної хвороби, виявили спільні біохімічні каскади, які призводять до смерті нейронів. Тому є дві різні стратегії профілактичного та терапевтичного втручання при нейродегенеративних розладах. Однією із стратегій терапії є блокування специфічних для хвороби реакцій, які ініціюють нейродегенеративний процес, тоді як друга стратегія націлена на реакції, що відбуваються в подальшому нейродегенеративному каскаді [1].

На сьогоднішній день, немає ідеальних терапевтичних підходів до лікування хвороби Альцгеймера. Сучасні препарати полегшують симптоми, але не виявляють глибокого впливу на хворобу. RNAi може бути цінним дослідницьким інструментом, який допомагає зрозуміти цю хворобу та є ефективним методом для клінічного застосування. Ключовою подією в патогенезі хвороби Альцгеймера є порушення протеолітичної обробки амілоїду та два ензими β-, та γ- секретази, які відповідають за розщеплення білка-попередника амілоїду для генерації нейротоксичного амілоїдного пептиду. Це і є мішенню для розробки ліків. Нещодавно, для ідентифікації використовували

RNAi та додаткові білки, такі як APH-1, які є критичними для виробництва амілоїдного пептиду. Дослідження показали, що культивовані нейрони можуть бути ефективно трансфіковані siRNAs і, що цільові гени ефективно пригнічені [2].

RNAi використовується для націлювання на експресію гена α-синуклеїну [3]. Вважається, що надмірна експресія α-синуклеїну дикого типу надає сприйнятливість до хвороби Паркінсона. Тому зараз вчені працюють над використанням коротких інтерферуючих РНК для націлювання та руйнування гена α-синуклеїну. Було показано, що експресія можлива в експериментальних дослідженнях на тваринах і має потенціал для розробки терапевтичних засобів для лікування хвороби Паркінсона. Інший підхід полягає в перенесенні *in vivo* генів, що кодують β-синуклеїн, неамілоїдогенний гомолог α-синуклеїну, який зв'язується з α-синуклеїном, зменшуючи його агрегацію та накопичення в синаптичній мембрані. Це може бути альтернативним підходом генної терапії для лікування хвороби Паркінсона [4].

РНК-інтерференцію також використовують для терапії хвороби Гантінгтона. Даний метод заснований на блокуванні експресії мутантного гена Гантінгтона. Було показано, що коротка шпилькова РНК, націлена на екзон 1 гена Гантінгтона ефективно інгібує експресію ХГ в нейронних і ненейрональних клітинних лініях [4]. Ці відкриття підтверджують подальший розвиток цієї техніки на моделях тварин.

Важливою також є робота Каплен та її колег [5], які показали, що RNAi можна використовувати для націлювання на патогенний процес у спадкових нейродегенеративних розладах, спричинених експансіями поліглутаміну. Вони синтезували дві siRNA, які націлювались на дві різні області клітинної ізоформи пріонного білка (PrPC) та показали, що обидві siRNA значно зменшили кількість PrPC у клітинах порівняно з макетом трансфікованих контрольних клітин. Таким чином, було показало що, принаймні в культурі клітин, за допомогою RNAi можливо вибірково заглушити транскрипції, які пов'язані з важливою групою генетичних захворювань.

У своїй роботі [6] вчені стверджують, що за рахунок біології нейронних клітин існує багато можливостей для застосувань РНК-інтерференції. Останні дані свідчать про те, що нейродегенеративні каскади які виникають при різних нейродегенеративних розладах, можуть спочатку активуватись в синапсах. Відповідно, вчені працюють над фармакологічними засобами і антисмисловим лікуванням, що захищають синапси в моделях клітинної культури нейродегенеративних розладів. Зазначається, що технологія RNAi може бути ідеальним підходом до націлювання на синаптичні білки, залучені в патогенез таких нейродегенеративних розладів [7].

Висновки. Технологія РНК-інтерференції є корисним методом для розробки високоякісних специфічних терапевтичних засобів для пригнічення генів на основі dsRNA. Відкриття цільових ліків починається з ідентифікації цільових генів та їхніх відповідних білкових продуктів. RNAi є важливим методом для аналізу функції генів та ідентифікації нових лікарських мішеней, які використовують dsRNA для знищення або пригнічення певних генів. У розглянутих роботах було чітко продемонстровано ефективність RNAi *in vivo* на тваринних моделях хвороби Альцгеймера, хвороби Паркінсона, хвороби Гантінгтона та інших, для зменшення патологічних молекул в нейронах. siRNA має потенціал стати великим класом терапевтичних препаратів для високоселективного та сильнодіючого інгібування молекул-мішеней. Застосування РНК-інтерференції дає можливість підтримувати баланс між експресією генів та функціонуванням нервової системи. На сьогодні, дослідження зосереджені на пошуку конкретних генів, які можуть бути підвищені або понижені з метою лікування певних неврологічних захворювань. На даний момент існують певні обмеження в застосуванні РНК-інтерференції, такі як проблеми з доставкою генетичних матеріалів до клітин і можливість негативного впливу на інші гени. Проте, застосування РНК-інтерференції в неврології має великий потенціал і може стати одним із ключових методів лікування цих захворювань у майбутньому. Далі наукові дослідження повинні бути спрямовані на подолання технічних обмежень і визначення оптимальних умов для застосування РНК-інтерференції в клінічних умовах.

Список використаної літератури:

1. Inflammation in neurodegenerative diseases / Sandra Amor, Fabiola Puentes, David Baker, Paul Van Der Valk. // immunology. – 2010. – С. 154–169.
2. Advances with RNA interference in Alzheimer's disease research / Shun Chen, Xuemei Ge, Yinghui Chen та ін.]. // Drug Design, Development and Therapy. – 2022. – С. 117–125.
3. Kewal K. Jain. Applications of Biotechnology in Neurology / Kewal K. Jain. – Basel, Switzerland: Jain PharmaBiotech, 2013. – 666 с.
4. Chin-Wei Huang. The borderland between epilepsy and movement disorders / Chin-Wei Huang, Wen-Juh Hwang. // Acta neurologica Taiwanica. – 2009. – С. 42–55.
5. Rescue of polyglutamine-mediated cytotoxicity by double-stranded RNA-mediated RNA interference / Natasha J Caplen, J Paul Taylor, Victoria S Statham та ін.]. // Human Molecular Genetics. – 2002. – С. 175–184.
6. OLLIVIER MILHAVET. RNA Interference in Biology and Medicine / OLLIVIER MILHAVET, DEVIN S. GARY, MARK P. MATTSON. // PHARMACOLOGICAL REVIEWS. – 2003. – С. 629–648.
7. Dinah W.Y. Sah. herapeutic potential of RNA interference for neurological disorders / Dinah W.Y. Sah. // Life Sciences. – 2006. – №79. – С. 1773–1780.

ІНТЕНСИФІКАЦІЯ ПРОЦЕСУ НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ *PLEUROTUS ERYNGII* ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА РІДКОМУ ЖИВИЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ ПОВЕРХНЕВИМ СПОСОБОМ

Кузнецова О.В., Власенко К.М., Зозуля К.Р., Жмур І.В.
ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет»,
Olga59kk@gmail.com

Вступ. Глива королівська або ерінги (*Pleurotus eryngii* (DC.) Quel.) широко культивується в Японії, Кореї, Китаї і практично відсутня у промисловому культивуванні в Україні. Цей гриб володіє пружною хрящуватою структурою, приємним грибним ароматом, має товсту ніжку та м'ясисту шапинку [1]. Як вважають дослідники, ерінги проявляють антиатеросклеротичну, протипухлинну активність, антиалергічну та антиоксидантну дію [2, 3]. Ерінги вважаються дієтичним продуктом, з лікувальними властивостями, який добре засвоюється та тривало зберігається. Однако *Pleurotus eryngii* відносяться до повільнозростаючих грибів, що є однією з перепон, що не дають можливості більш активно вводити цей гриб у культуру в Україні. Вчені пропонують різні способи з підвищення швидкості розвитку грибного міцелію *P. eryngii*, наприклад, застосування комплексних субстратів для культивування [4]. У наших роботах було показано, що інтенсифікувати процес розвитку міцелію *P. eryngii* на агаризованих середовищах можливо за рахунок додавання такого стимулятору росту, як гіберелін: спостерігали для штамів *P. eryngii* збільшення середньої швидкості радіального росту міцелію від 10,5 до 60 % [5].

Метою наукової роботи було дослідження можливості інтенсифікації процесу накопичення біомаси штамами *P. eryngii* при поверхневому культивуванні на рідких живильних середовищах шляхом додавання стимуляторів росту.

Матеріали та методи. Об’єктами дослідження були штами їстівного гриба *Pleurotus eryngii* ІВК–2011 та ІВК-1972, отримані із Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України. Штам ІВК-2011 є німецьким промисловим штамом, ІВК-1972 – виділений японськими дослідниками.

Вирощування маточного міцелію *P. eryngii* проводили на солодовому живильному середовищі. Міцелій *P. eryngii* отримували поверхневим культивуванням на рідкому живильному середовищі на основі кукурудзяного відвару (КВ). Підготовку та стерилізацію живильних середовищ здійснювали загальноприйнятими методами [6, 7]. Для інтенсифікації процесу отримання грибного міцелію у живильне середовище додавали стимулятори росту гіберелін і біогумат у концентрації 50 мг/л. Контрольне середовище не містило стимуляторів росту. Значення pH кукурудзяного живильного середовища становило 6,2. Посів міцелію робили блоками діаметром 8 мм, які нарізали на маточному міцелії спеціальним інструментом (7 блоків на 50 мл живильного середовища). Початкову біомасу міцелію визначали шляхом висушування блоків у сушильній шафі при температурі 40°С та наступним зважуванням.

Тривалість культивування склала 14 діб, отримані міцеліальні колонії на поверхні різних варіантів живильного середовища описували за культурально-морфологічними ознаками (тип та колір колоній, колір реверзуму, щільність, край, зовнішня лінія колоній). Потім міцелій відфільтровували від культуральної рідини, висушували у сушильній шафі при температурі 40℃ протягом трьох діб, після чого зважували. Швидкість росту грибного міцелію визначали за накопиченням біомаси – г на добу.

Результати та обговорення. Міцеліальні колонії *P. eryngii,* що утворилися на поверхні різних варіантів живильного середовища не відрізнялися від контрольного варіанту та були ватоподібні, щільні, білого кольору, колір реверзуму – бежевий, край колонії – піднятий, зовнішня лінія – гладка (рис. 1). Таким чином, внесення стимуляторів росту не вплинуло на культурально-морфологічні ознаки міцеліальних колоній.

Рис. 1. Міцелій *P. eryngii (*штам ІВК–1972) на кукурудзяному живильному середовищі з гібереліном.

Початкова біомаса міцелію склала для штаму ІВК-2011 – 4,6 г/л, ІВК-1972 – 3,0 г/л. Накопичення біомаси *P. eryngii* (ІВК-2011) у порівнянні з початковою біомасою наведено на рис. 2.

Аналіз отриманих даних показав, що у порівнянні з контрольним варіантом накопичення міцеліальної біомаси *P. eryngii* (ІВК-2011) було достовірно більшим на живильних середовищах з додаванням стимуляторів росту і становило: збільшення на 52,8 % на середовищі з гібереліном і на 17,4 % на середовищі з біогуматом. У порівнянні з початковою біомасою, біомаса міцелію штаму ІВК-2011 збільшилась на контрольному варіанті у 4 рази, з застосуванням гібереліну – у 6 разів, біогумату – у 4,5 раза. Тобто, стимулятори росту сприяють

інтенсифікації процесу накопичення біомаси повільнозростаючим штамом ІВК-2011.

Накопичення біомаси *P. eryngii* (ІВК-1972) у порівнянні з початковою біомасою наведено на рис. 3.

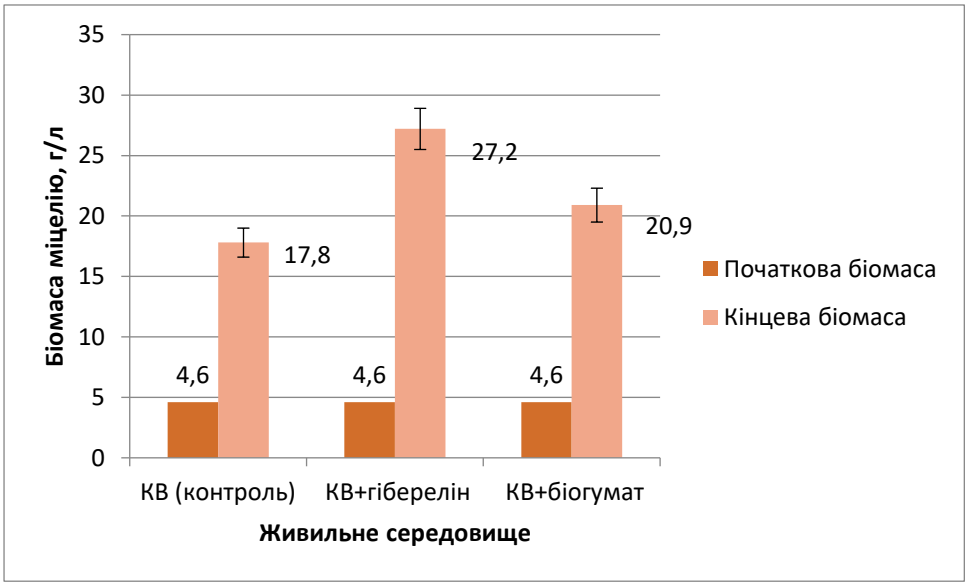


Рис. 2. Накопичення біомаси *P. eryngii* (штам ІВК–2011) на різних варіантах живильного середовища.

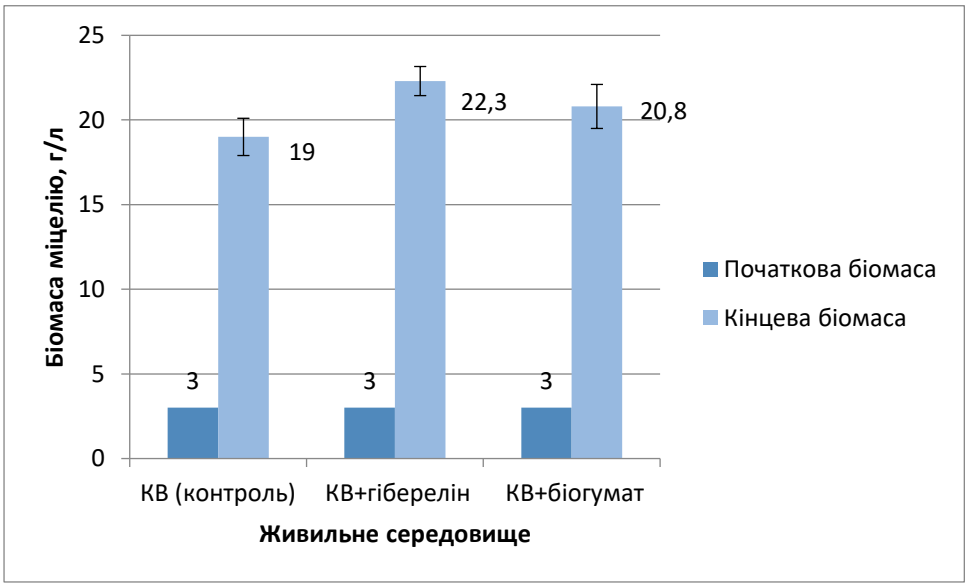


Рис. 3. Накопичення біомаси *P. eryngii* (штам ІВК–1972) на різних варіантах живильного середовища.

Аналізуючи результати, що представлені на рис.3, можна відмітити достовірне збільшення біомаси міцелію штаму ІВК-1972 на варіанті з додаванням гібереліну і недостовірне - на варіанті з додаванням біогумату: у порівнянні з контролем біомаса міцелію зросла на 17,4 і на 9,5 % відповідно. У порівнянні з початковою біомасою зростання зафіксовано на контролі – у 6,3 раза, з гібереліном – у 7,4 раза, з біогуматом – у 7 разів. Незважаючи на таке

зростання біомаси штаму ІВК-1972, все ж таки у процентному відношенні штам ІВК-2011 характеризується більшою здатністю накопичувати біомасу при поверхневому способі культивування на рідких живильних середовищах, ніж штам ІВК-1972.

Швидкість росту грибного міцелію штаму ІВК-2011 склала: 0,9 г/добу на контролі, 1,6 г/добу на середовищі з додаванням гібереліну, 1,2 г/добу на середовищі з додаванням біогумату. Для штаму ІВК-1972 швидкість росту міцелію становила: 1,1 г/добу на контролі, 1,4 г/добу на середовищі з додаванням гібереліну, 1,3 г/добу на середовищі з додаванням біогумату.

Висновки. Повільнозростаючі штами грибів *P. eryngii* потребують оптимізації живильних середовищ та інтенсифікації процесу накопичення біомаси, що може значно знизити ризики зараження живильного середовища внаслідок довготривалого процесу росту міцелію. Дослідження з накопичення міцеліальної біомаси штамів *P. eryngii* (ІВК-2011, ІВК-1972) показали, що стимулятори росту гіберелін та біогумат (комплексний стимулятор росту) здатні інтенсифікувати процес наростання грибної біомаси у повільнозростаючих штамів. Особливо найкращі результати були отримані при додаванні гібереліну у концентрації 50 мг/л до рідкого живильного середовища на основі кукурудзяного відвару. При цьому для штаму ІВК-2011 збільшення біомаси у порівнянні з контролем склало 52,8 %, а для штаму ІВК-1972 – 17,4%.

Таким чином, інтенсифікація процесу накопичення біомаси грибного міцелію шляхом внесення стимуляторів росту може сприяти більш ефективному процесу введення у культуру в Україні нових корисних видів грибів.

Список використаної літератури:

1. Buchalo A., Mykchaylova O., Lomberg M., Wasser P.S. Microstructures of vegetative mycelium of macromycetes in pure cultures. Kiev, 2009. 224 pp.

2. Koichiro Mori, Takako Tomita et al. Antiatherosclerotic effect of the edible mushrooms *Pleurotus eryngii* (Eringi), *Grifola frondosa* (Maitake), and *Hypsizygus marmoreus* (Bunashimeji) in apolipoprotein E-deficient mice. Nutrition Research. 2008. 28(5):335-42.

3. Бухало А.С., Бабицкая В.Г., Бисько Н.А. и др. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре. Т. 1. К.: Альтерпрес, 2011. 212 с.

4. Бандура И.И., Кулик А.С., Чаусов С.В., Цизь А.М. Влияние состава растительных субстратов на эффективность культивирования съедобных грибов *Cyclocybe aegerita* (V. Brig.), *Pleurotus eryngii* (DC.) Quel., *Pleurotus citrinopileatus* Singer и *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer. Вісник аграрної науки Причорномор'я. 2020. Вип. 3. С. 62-70.

5. Кузнецова О.В. Вплив гібереліну на культуральні та ростові ознаки вегетативного міцелію штамів грибів роду *Pleurotus* за культивування на агаризованих живильних середовищах. Наукові доповіді НУБіП України. 2020. № 6 (88).

6. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Промислова мікологія» для студентів IV-V курсів спеціальності «Біотехнології та біоінженерія» / Укл. О. В. Кузнецова, К. М. Власенко. Дніпропетровськ: ДВНЗ УДХТУ, 2017. 79 с.

7. Методы экспериментальной микологии: Справочник / Под ред. В.И. Билай. К.: Наукова думка, 1982. 552 с.

ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ НАКОПИЧЕННЯ ВІРУСУ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУРЕЙ, ШТАМУ «БК/07»

Кузовлєва В.Д.[1], Собко Ю.А.[2], Шевченко Н.І.[3]
[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського
[2,3]ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», info@biotestlab.net

Вступ. Інфекційний бронхіт курей (надалі – ІБК) є висококонтагіозним захворюванням, що оцінюється як друга найбільш шкідлива хвороба свійської птиці після високопатогенного пташиного грипу [1]. Захворювання викликає коронавірус, який вражає верхні дихальні шляхи та репродуктивний тракт, що призводить до зменшення несучості курей.

Вакцинація є найважливішим способом боротьби з інфекційними захворюваннями у курей. Враховуючи генетичну мінливість вірусу ІБК найефективнішою стратегією вакцинації є використання генетично споріднених варіантів вірусу, що дозволить забезпечити перехресний захист [2].

Штам «БК/07» є генетично близьким до штаму штаму 793/В – одного з найбільш поширених серотипів ІБК у всьому світі. Використання даного штаму в схемах вакцинації курей надасть змогу розширити ступінь захисту від захворювання.

Метою нашої роботи було визначення оптимальних умов накопичення вірусу ІБК, штаму «БК/07» за-для отримання очікуваного рівня вірусної активності у вакцині.

Матеріали та методи. Вірус ІБК, штам «БК/07» з титром інфекційної активності 7,2 lg $ЕІД_{50}/см^3$. Штам є високочутливим до сонячного проміння та зменшує активність за кімнатної температури.

Культивування вірусу проводили у ВПФ-КЕ (фірми Charles River, США) 11-добового віку.

Було сформовано 6 груп по 30-40 ВПФ-КЕ у кожній. Доза зараження становила 3,0 lg $ЕІД_{50}/0{,}2см^3$; 3,5 lg $ЕІД_{50}/0{,}2см^3$ та 4,0 lg $ЕІД_{50}/0{,}2см^3$ відповідно.

Зараження курячих ембріонів відбувалося у зоні ламінарного потоку за допомогою одноразових 1,0 мл шприців в товщу алантоїсної рідини в об'ємі 0,2 $см^3$ на кожен ембріон. Розведення вірусу протягом процесу зберігалися на холодоагенті температурою 2-8°С з метою збереження активності вірусу.

Далі зараженні КЕ інкубували за температури 37,5±0,5°С та 36,0±0,5°С впродовж 36 годин. На 24-ту годину інкубації було проведено облік неспецифічної загибелі ембріонів, що відбулася в результаті «заколу», з метою відбракування даних яєць. На 36-ту годину було проведено облік специфічної загибелі ембріонів – під дією інфекційної активності вірусу – та постановка КЕ на охолодження протягом 12 годин.

Після був проведений етап збору напрацьованого антигену в умовах ламінарного потоку. Антиген з кожної групи КЕ збирався окремо у відповідні промарковані ємності.

Подальше визначення титру інфекційної активності отриманого антигену з кожної групи КЕ проводили шляхом титрування на 8-11-добових ВПФ-КЕ.

Готували десятикратні розведення отриманого антигену на фосфатно-сольовому буфері від 10^{-1} до 10^{-8}. Кожним розведенням заражали по 4 КЕ в алантоїсну порожнину, в об'ємі 0,2 $см^3$.

Заражені ВПФ-КЕ інкубували при 37,5±0,5°С протягом 8 діб. Через 24 години після зараження провели відбракування неспецифічно загиблих ембріонів.

Після закінчення терміну інкубування провели розтин ВПФ-КЕ. ВПФ-КЕ з ознаками ураження вірусом інфекційного бронхіту курей: відставання у рості, карликовість, виснаження, вважали позитивними. Визначення титру проводили за формулою Кербера в модифікації Ашмаріна.

Результати та обговорення. Було встановлено титр інфекційної активності вакцинного вірусу в різних температурних умовах інкубації та при дозах зараження (табл. 1).

Таблиця 1. Титр інфекційної активності вірусу ІБК шт. БК-07 в різних температурних умовах інкубації та при дозах зараження.

Доза зараження, lg $ЕІД_{50}/0,2см^3$	Титр інфекційної активності (lg $ЕІД_{50}/см^3$) за температури інкубації:	
	36,0 ± 0,5 °С	37,5 ± 0,5 °С
3,0	7,0	7,2
3,5	7,5	7,7
4,0	7,3	7,7

Спостерігається збільшення титру активності вірусу при збільшенні температури культивування від 36,0 до 37,5°С.

За доз зараження 3,5 lg $ЕІД_{50}/0,2см^3$ та 4,0 lg $ЕІД_{50}/0,2см^3$ та температури культивування 37,5±0,5°С спостерігається однаково високий титр активності. Але при дозі зараження 3,5 lg $ЕІД_{50}/0,2см^3$ за температури культивування 36,0±0,5°С був трохи більшим, ніж при дозі 4,0 lg $ЕІД_{50}/0,2см^3$. Тому, враховуючи те, що при дозі 3,5 lg $ЕІД_{50}/0,2см^3$ титр активності вірусу був вищим при обох температурах, можна прийняти, що доза 3,5 lg $ЕІД_{50}/0,2см^3$ є більш ефективною для культивування.

Також варто відзначити, що більш висока доза вірусу призводить до більшого відсотку специфічної загибелі.

Висновки. За результатами проведених досліджень нами були встановлені оптимальні умови накопичення вірусу інфекційного бронхіту курей, штаму «БК/07»: доза зараження 3,5 lg $ЕІД_{50}/0,2см^3$ та температура культивування 37,5±0,5°С.

Список використаної літератури:

1. Rodrigo A. Infectious bronchitis virus variants in chickens: evolution, surveillance, control and prevention. Austral journal of veterinary sciences. 2021. Vol. 53, No. 1. P. 55-62.

2. Sultan Hesham A., Ali Ahmed, El Feil Wael K. Protective Efficacy of Different Live Attenuated Infectious Bronchitis Virus Vaccination Regimes Against Challenge With IBV Variant-2 Circulating in the Middle East. Frontiers in Veterinary Science. 2019. Vol. 6.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ БІОГЕННИХ СТИМУЛЯТОРІВ НА РОСЛИННІ БІООБ'ЄКТИ

Кулеш А.В., Стрілець О.П., Стрельников Л.С.
Національний фармацевтичний університет
oksanastr1970@gmail.com

Вступ. Останнім часом, для нормалізації процесів обміну та підтримання імунітету живих організмів все більше уваги приділяється застосуванню якісно нових екологічно безпечних препаратів природного походження, що володіють високою біологічною активністю, відсутністю побічних явищ та звикання. Такими препаратами є біогенні стимулятори, які представляють собою комплекс органічних сполук, що виділяють з тканин живих організмів під впливом критичних умов: низької температури, темноти, деяких хімічних речовин, ультрафіолетового та рентгенівського проміння. Після введення біогенних стимуляторів у живий організм, значно прискорюється обмін речовин, відбувається швидка регенерація клітин, підвищується рівень адаптації. Це відкриває широкі можливості для використання біогенних стимуляторів у різноманітних сферах [2, 3].

В рослинництві біостимулятори використовують для прискорення росту пагонів та кореневих систем, для раннього цвітіння та плодоношення [1, 2]. В тваринництві – для підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин. В медицині – для лікування багатьох захворювань. Перевагою застосування біогенних стимуляторів є те, що їх добре переносять живі організми, вони малотоксичні, не акумулюються та не викликають звикання. Основною реакцією організму на потрапляння біогенного стимулятора є підвищення інтенсивності обміну речовин, стимуляція життєвих сил організму, прискорене відновлення тканин, збільшення м'язової маси, приживлення чужорідної тканини, стимуляція росту клітин. Серед біогенних стимуляторів, що отримують з рослинних тканин, велику популярність мають сік алое, каланхое, очитка, лимонника, женьшеню [2, 3].

На кафедрі біотехнології НФаУ проводиться робота, метою якої було дослідження впливу біогенних стимуляторів соку алое деревовидного та каланхое Блоссфельда на ростові процеси рослин.

Матеріали та методи. В якості модельних рослин було обрано насіння бобових – квасолі звичайної та гороху посівного через їх швидкий ріст та легке спостереження. Проведення досліду зі впливу біогенних стимуляторів на рослинні біооб'єкти здійснювали згідно методу В.П. Філатова [2]. Щоб стимулювати, листя алое та каланхое поміщали до холодильної камери, де за низької температури мали утворитися та накопичитися біогенні стимулятори.

Результати та обговорення. Для проведення випробування використовували нижнє листя 10-річної рослини алое деревовидного та 5-річної рослини каланхое Блоссфельда. Через два тижні з біостимульованого листя було приготовано сік методом прямого віджиму різної концентрації: листя подрібнили, вичавили сік та профільтрували. Концентрат соку розводили водою очищеною у співвідношенні 1:2, 1:5, 1:10 (отримали 50%, 20% та 10% розчини).

Насіння гороху та квасолі підібрали для експерименту приблизно однакового розміру та кольору. Зерна заздалегідь були відібрані за допомогою занурення у воду. Для пророщування залишили тільки те насіння, що потонуло. Насіння пророщували у контейнерах з біостимуляторами (досліджувані зразки) та питною водою кімнатної температури (контрольний зразок). Для цього насіння горіху (по 20 зерен у кожну) і квасолі (по 10 зерен) викладали у ємності і обробляли 10%, 20% та 50% розчинами соку алое і каланхое (досліджувані зразки).

Було створено оптимальні умови для проростання насіння: освітлення, тепло (температура приміщення зберігалася +24°С), повітря, волога. Проводили щоденне спостереження та фіксували кількість насіння, що проросло та довжину зародкового корінця. Отримані результати спостереження наглядно довели, що біогенні стимулятори алое та каланхое впливають на проростання насіння рослин, оскільки в ємностях, де знаходились біостимулятори процес проростання почався раніше, ніж у контрольних зразках, а зародковий корінець був довший та міцніший. З'ясували, що 20% розчини соку алое і каланхое краще впливають на ділення та ріст клітин, ніж 10% та 50% розчини.

В досліджуваній групі насіння, що проростало під впливом соку каланхое та алое простежувалася позитивна динаміка: проросло 100% насіння, спостерігався інтенсивний ріст зародкового кореня, паростки були більш розвинуті. Дія біогенного стимулятору каланхое на ріст зародкового кореня виявилася сильнішою, ніж у алое. Встановлено, що в якості критеріїв, які характеризують процеси росту насіння можуть бути виділені такі, як: ступінь проростання насіння; ріст зародкового корінця, його розмір та інтенсивність росту.

Висновки. Проведені дослідження продемонстрували, що в досліджуваній групі насіння, що проростало під впливом соку каланхое та алое різних концентрацій простежувалася позитивна динаміка: проросло 100% насіння, спостерігався інтенсивний ріст зародкового кореня, паростки були більш розвинуті.

Отримані експериментальні результати показали, що оптимальна концентрація біогенних стимуляторів алое та каланхое, яка необхідна насінню для проростання складає 20% і стимулююча дія соку каланхое виявилася сильнішою. Кожен компонент соку грає важливу роль, а разом вони посилюють дію одне одного, утворюючи унікальну суміш – справжнє цілюще живлення для клітин та тканин.

Список використаної літератури:

1. Мерушина А.С. Шляхи підвищення імунітету гороху в онтогенезі до фітофагів. Вісник Уманської державної аграрної академії. 2001. №1–2. С.27–32.

2. Пономаренко С.П. Біостимуляція в рослинництві – український прорив. Біологічні препарати в рослинництві. К., 2008. С.475–480.

3. García-Pérez P., Lozano-Milo E., Landin M., Gallego P. P. From Ethnomedicine to Plant Biotechnology and Machine Learning: The Valorization of the Medicinal Plant Bryophyllum sp. Pharmaceuticals. 2020. V. 13. P. 444. https://doi.org/10.3390/ph13120444

ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ КУЛЬТИВУВАННЯ *E. ASHBYI* ТА *A.GOSSYPII* ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ РИБОФЛАВІНУ

Лазарець П.С., Поліщук В.Ю.
Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», pavlo.ls.0307@gmail.com

Вступ. Рибофлавін − є одним із найрозповсюдженіших вітамінів, що необхідні для життєдіяльності організму. Значення рибофлавіну для живого організму полягає у тому, що він входить до складу коферментів, що беруть участь в окисно-відновних реакціях та функціонують у ланцюзі переносу електронів в мітохондріях під час реакцій дегідрування. Рибофлавін широко застосовується у медицині, фармацевтичній промисловості, сільському господарстві, тваринництві і птахівництві [1]. Спеціальні добавки рибофлавіну мають стимулюючу дію на птахів: при його нестачі можлива затримка у рості, знижується імунітет. Наразі для біосинтезу рибофлавіну застосовують такі мікроорганізми, як *E. ashbyi, A. gossypii, C. famata* та генетично модифіковані штами таких мікроорганізмів як *Escherichia coli*, *B. subtilis*, *Corynebacterium ammoniagenes* та *Candida* spp., застосовуючи інженерні стратегії метаболізму. Метою нашої роботи є дослідження особливостей процесу культивування *Eremothecium ashbyi* та *Ashbya gossypii* для обрання кращого продуценту [1,2].

Матеріали та методи. При підготовці даного літературного огляду були використані наукові публікації, звіти, статті в періодичних наукових журналах та інші літературні джерела, що стосуються таких продуцентів рибофлавіну як *Eremothecium ashbyi* та *Ashbya gossypii.*

Результати та обговорення. Останніми роками проведена чимала кількість досліджень з метою пошуків надпродуцентів рибофлавіну грибами роду *Eremothecium.* За допомогою різних генно-інженерних методів були отримані мутанти, що характеризуються підвищеною продуктивністю до біосинтезу рибофлавіну. Наприклад, продуктивність штаму *Ashbya gossypii* ZP4 при культивуванні на середовищі з рапсовою олією збільшується втричі а штам *Ashbya gossypii* ATCC 10895-32, що отриманий за допомогою УФ-випромінювання на середовищі з соєвою олією синтезує на 42% рибофлавіну більше [3].

Eremothecium ashbyi та *Ashbya gossypii* представляють інтерес, обумовлений їх здатністю продукувати промислово важливі біологічно активні сполуки [4]. *E. ashbyi* і *A. gossypii* є природними суперпродуцентами рибофлавіну завдяки їх властивості пригнічувати дію іонів заліза, що інгібують у інших мікроорганізмів біосинтетичні шляхи утворення вітаміну [3]. Крім отримання рибофлавіну за допомогою грибів роду *Eremothecium* можна біотехнологічним способом отримувати ефірну олію з ароматом троянди. Синтез ефірної олії може досягати 175 мг на 1 л культуральної рідини. Рівень ефірної олії, яку здатен накопичити в 1 л культуральної рідини даний продуцент можна порівняти з вмістом ефірної олії в 500 г квіток троянд. За ароматом та властивостями вони ідентичні. Також *E. ashbyi* здатен гіперпродукувати флавінаденіндинуклеотид (ФАД), на відміну від *A. gossypii* [2].

Також проведено багато досліджень з метою вивчення культуральних та фізіолого-біохімічних особливостей даних продуцентів. Динаміка накопичення біомаси *E. ashbyi* при культивуванні в рідкому поживному середовищі підпорядковується відомим закономірностям для простих періодичних культур: до 36 год зростання йде експоненціально і досягає 2,0 г сухої біомаси на 1 л культуральної рідини, потім спостерігається уповільнення швидкості, ріст сповільнюється, що характерне при переході до стаціонарної фази та до кінця ферментації - початку автолізу культури. При цьому змінюється pH: окислення культуральної рідини в період активного росту до 5,5 і збільшення pH до 6,2 в стаціонарну фазу і фазу лізису [4].

Біосинтез рибофлавіну залежить від джерел карбону та азоту у поживному середовищі. Зазвичай, *E. ashbyi* культивується у середовищах, що містить у своєму складі глюкозу або сахарозу, мелясу, гідрол, а в якості джерел азоту – пептон, соєве борошно, дріжджовий або кукурудзяний екстракти. Можна використовувати дешеві відходи в якості джерел азоту, наприклад, макуху з насіння арахісу та кунжуту [5]. *E. ashbyi* при культивуванні на агаровому середовищі, що містить 4% солоду та 0,5% дріжджового екстракту, при температурі 20-22 °С утворює бліді колонії діаметром 5 мм, що поступово набувають яскраво-жовтого кольору за рахунок виділення рибофлавіну [5].

Недолік культури *E. ashbyi* - її нестабільність. При зберіганні на твердих середовищах при кімнатній або низькій температурі і навіть в процесі ліофілізації гриб легко втрачає здатність до надсинтезу рибофлавіну. Для збереження штаму *E. ashbyi* в активному стані протягом тривалого часу (8-10 місяців) рекомендується проводити систематичне розсівання на тверді поживні середовища і відбирати найбільш інтенсивно забарвлені в помаранчевий колір колонії. Проведене дослідження по вивченню впливу температурних режимів на ріст і розвиток *E. ashbyi* і *A. gossypii* показало, що досліджувані мікроміцети здатні до зростання в діапазоні 20–35^{o}С, температурний оптимум становить 26–28^{o}С [6].

Оптимум pH при культивуванні *E. ashbyi ma A. gossypii* знаходиться в межах 5,5 - 6,5, а найбільша кількість утвореної біомаси спостерігається при pH 6.0. Варто зазначити, що при культивуванні обох мікроорганізмів після ферментації спостерігається зміна pH, особливо при вирощуванні на глюкозо-пептонному середовищі. За відношенням до кисню обидва продуценти є аеробами в умовах глибинного і поверхневого культивування. У разі відсутності кисню у середовищі дані продуценти не будуть синтезувати рибофлавін. Для досягнення більшого рівня синтезу рибофлавіну *E. ashbyi* засів поживного середовища у ферментері має проводитися спорами, які щойно проросли [6].

В якості поживного середовища можна застосовувати 1–3% розчин меляси, гідролу або глюкози, 3–8% розчин кукурудзяного екстракту або дріжджового автолізату, з додаванням N, P_2O_5, K, Mg, Zn. Для отримання кормового рибофлавіну доцільно застосовували середовище, яке складається з олії, соєвого борошна, кукурудзяного екстракту, крейди та бурякового або яблучного порошку. пептону, Біосинтез рибофлавіну підвищується при додаванні ненасичених жирних кислот, а насичені жирні кислоти уповільнюють

біосинтез рибофлавіну. Культивування *E. ashbyi* стимулюється додаванням вітамінів групи В. Піримідинові та пуринові основи є попередниками при біосинтезі рибофлавіну і також можуть бути використані для стимуляції його біосинтезу. Міцеліальний гриб *E.ashbyi* здійснює надсинтез не лише рибофлавіну, але й ФАД. Особливо активно синтезується ФАД при додаванні у поживне середовище мальтози [7].

Висновки. Таким чином, оптимальним продуцентом рибофлавіну доцільно обрати *Eremothecium ashbyi*. Крім надсинтезу рибофлавіну *E. ashbyi* здійснює синтез ФАД та ефірної олії. Це дає можливість виробляти ефірну олію в якості додаткового цільового продукту. Даний продуцент не несе з собою ризику передачі генів стійкості до антибіотиків, а отже є цікавим та перспективним об'єктом для використання при виробництві рибофлавіну, що вимагає встановлення особливостей синтезу продукту та можливостей його регуляції.

Список використаної літератури:

1. L. A. Averianova, L. A. Balabanova, O. M. Son, A. B. Podvolotskaya, and L. A. Tekutyeva, "Production of Vitamin B2 (Riboflavin) by Microorganisms: An Overview," Front. Bioeng. Biotechnol., vol. 8, Nov. 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.570828.
2. S. K. Schwechheimer, E. Y. Park, J. L. Revuelta, J. Becker, and C. Wittmann, "Biotechnology of riboflavin," Appl. Microbiol. Biotechnol., vol. 100, no. 5, pp. 2107–2119, Mar. 2016, doi: 10.1007/s00253-015-7256-z.
3. Pujari V. Physio-morphological changes in a riboflavin producer Eremotecium ashbyii DT1 and UV mutants in submerged fermentation / V. Pujari, T. S. Chandra // Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2001. – V. 11. – №4. – P. 552–557.
4. V. Pujari and T. S. Chandra, "Statistical optimization of medium components for improved synthesis of riboflavin by Eremothecium ashbyii," Bioprocess Eng., vol. 23, no. 3, pp. 303–307, 2000, doi: 10.1007/PL00009127.
5. A. E. Kalingan and C. M. Liao, "Influence of type and concentration of flavinogenic factors on production of riboflavin by Eremothecium ashbyii NRRL 1363," Bioresour. Technol., vol. 82, no. 3, pp. 219–224, 2002, doi: 10.1016/S0960-8524(01)00194-8.
6. Гусєв М. В., Мінева Л. А. Мікробіологія: підручник для студентів біологічних спеціальностей закладів вищої освіти / за заг. ред. М. В. Гусєва, Москва. 2003. С. 351–365.
7. X. Cheng, J. Zhou, L. Huang, and K. tai Li, "Improved riboflavin production by eremothecium ashbyii using glucose and yeast extract," African J. Biotechnol., vol. 10, no. 70, pp. 15777–15782, 2011, doi: 10.5897/AJB11.986.
8. Lim, S.H., Choi, J.S. & Park, E.Y. (2001). Microbial production of riboflavin using riboflavin overproducers,Ashbya gossypii, Bacillus subtilis, and Candida famate: An overview. Biotechnol. Bioprocess Eng. 6, 75–88 https://doi.org/10.1007/BF02931951

ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ РОСЛИН МОНАРДИ ЛИМОННОЇ (*MONARDA CITRIODORA* CERV. EX LAG.)

Малєвська З. -М. В., Кваско О. Ю.
Київський палац дітей та юнацтва, malevska.z.m@gmail.com

Вступ. В останні роки значно підвищився інтерес до методів культури рослин *in vitro*. Суть методу полягає у вирощуванні чистих культур рослин у стерильних умовах. Метод культивування ізольованих протопластів, клітин, тканин, органів та цілих рослинних організмів *in vitro* дозволяє використовуючи ізольований стан об'єктів культивування в умовах *in vitro* керувати диференціацією та морфогенезом рослин, проводити генетичну трансформацію, швидко наростити безвірусний садивний матеріал у кількостях, достатніх для вирощування у промислових масштабах. Він є основою для створення перспективної сировини для біотехнології отримання біологічно активних речовин.

Управління процесами морфогенезу, диференціації, дедиференціації, росту та розвитку у експлантованих об'єктах, культивованих клітинах та тканинах здійснюється через варіювання якісного та кількісного складу компонентів живильних середовищ, зокрема, фітогормонів, вітамінів, вуглеводів, а також різноманітних технік експлантації і трансплантації, умов культивування [1].

Monarda citriodora (рис. 1) – багаторічник роду *Monarda* родини *Lamiaceae.* Поширена у США та Мексиці. Стебла прямі до 80-90 см. Листки-ланцетні. Суцвіття – 5-7 мутовок з дрібними квітками. Стебла, листя та квітки містить ефірну олію. Цвіте білими, фіолетовими та рожевими кольорами з травня по липень (у північній півкулі), продовжуючи цвісти навіть пізніше в році, якщо їм давати воду. Рослина гине з першими заморозками, і хоча монарда лимонна є однорічною, її насіння можуть прорости і вирости наступного року.

Ефірна олія монарди має спазмолітичну, протизапальну дію, сприяє виведенню з організму токсинів і отрут, зміцненню імунітету, що дозволяє рекомендувати цей засіб в боротьбі з грипом і простудними захворюваннями. Вона може служити природним консервантом крові, не допускаючи приживлення чужорідних тканин. Це засіб, що допомагає вилікувати променеву хворобу і захистити організм від радіації.

Рис. 1. Рослини монарди лимонної (Monarda citriodora).

Додавання ефірної олії монарди в чай сприяє відновленню після хіміотерапії. Крім того, його застосовують для лікування опіків, екземи, дерматитів, а також бронхіальної астми. Ефірна олія монарди ефективна проти грибкових захворювань, має антимікробну активність [2, 3]. Завдяки антибактеріальним

властивостям олія є ефективним засобом для очищення та знезараження повітря в приміщенні в період епідемій.

Дане дослідження може дати початок для більш детального вивчення та покращення антисептичних, лікувальних та антиоксидантних властивостей рослин *Monarda citriodora* та їх подальшого впровадження у фармацевтичну промисловість та косметологію.

Отже, метою даної роботи було отримання асептичної культури рослин монарди лимонної *(Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag.).

Матеріали і методи. Вихідним матеріалом слугувало насіння рослин *Monarda citriodora.* Введення в культуру *in vitro* рослин *Monarda citriodora* проводили за допомогою методу поверхневої стерилізації насіння. Спочатку насіння витримували у розчині 70% етанолу протягом 30 секунд, 10 хвилин у 25% розчині комерційного препарату «Білизна» (розчин гіпохлориту натрію). Потім промивали у стерильній дистильованій воді (тричі по 10 хвилин). Стерильне насіння пророщували на живильному середовищі Мурасиге і Скуга (МС) без додавання регуляторів росту та середовищі МС з додаванням 0,5 мг/л цитокініну 6-бензиламінопурину (БАП) [4].

Результати дослідження. Асептичні рослини монарди лимонної було отримано при поверхневій стерилізації насіння. Проростання насіння спостерігали на 3-5 добу культивування. Варто зазначити, що енергія проростання насіння на середовищі МС без додавання регуляторів росту складала 11%. При пророщуванні насіння монарди лимонної на живильному середовищі МС з додаванням БАП у концентрації 0,5 мг/л спостерігали підвищення енергії проростання до 87 %. При культивуванні отриманих асептичних рослин не спостерігали грибної та бактеріальної контамінації, що свідчить про ефективність застосованої схеми стерилізації насіння.

На 18 добу культивування на живильному середовищі МС з 0,5 мг/л БАП ми отримали пагони монарди лимонної в культурі in vitro, довжина яких складала від 2±0,15 до 5±0,26 см (рис. 2)

Рис. 2. Асептичні рослини монарди лимонної на живильному середовищі МС з 0,5 мг/л БАП з різних ракурсів

Отримані асептичні пагони не утворювали коріння при вирощуванні на зазначеному середовищі. Оскільки відомо, що перенесення пагонів на живильне середовища МС зі зменшеним вдвічі вмістом макроелементів (1/2МС) сприяє

укоріненню, подальше культивування отриманих асептичних рослин монарди лимонної здійснювати на середовищі 1/2МС. Утворення коренів за таких умов вирощування спостерігали протягом 10 діб (рис. 3).

Рис. 3. Укорінення пагонів монарди лимонної на живильному середовищі Мурасиге та Скуга зі зменшеним вдвічі вмістом макроелементів.

Висновки. Показано, що асептичні рослини монарди лимонної можна отримати за допомогою поверхневої стерилізації насіння 25%-им розчином гіпохлориту натрію. Встановлено, що енергія проростання насіння монарди лимонної є вищою в 7,5 рази при використанні середовища МС з 0,5 мг/л БАП, ніж середовища МС без регуляторів росту. Визначено, що для укорінення асептичних пагонів монарди лимонної необхідно їх культивування на середовищі Мурасиге та Скуга зі зменшеним вдвічі вмістом макроелементів.

Список використаної літератури:

1. Сатарова Т. М. Біотехнологія рослин : [навчальний посібник] / Т.М.Сатарова, О.Є.Абраімова, А.І.Вінніков, А.В.Черенков. – Дніпропетровськ : Адверта, 2016. – 136 с.
2. Chris D. Bishop & Ian B. Thornton Evaluation of the Antifungal Activity of the Essential Oils of *Monarda citriodora* var. *Citriodora* and *Melaleuca alternifolia* on Post-Harvest Pathogens // Journal of Essential Oil Research. - 1997. - Vol. 9, № 1. - P. 77-82.
3. Maura Di Vito, Maria Grazia Bellardi, Francesca Mondello, Monica Modesto, Marco Michelozzi, Francesca Bugli, Maurizio Sanguinetti, Maria Carla Sclocchi, Maria Letizia Sebastiani, Sauro Biffi, Lorenzo Barbanti, Paola Mattarelli (2019). Monarda citriodora hydrolate vs essential oil comparison in several anti-microbial applications. Industrial Crops and Products, Volume 128, Pages 206-212.
4. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol.15, № 3. – P. 473 − 497.

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ДІЄТИЧНОЇ ДОБАВКИ З ПРОБІОТИЧНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ НА ОСНОВІ КОРИСНОГО ШТАМУ БАКТЕРІЙ *STREPTOCOCCUS SALIVARIUS* BLIS K12

Мельничук Я.О., Старовойтова С.О.
Національний університет харчових технологій, ymelnychuk12@gmail.com

Вступ. В сучасних реаліях світова тенденція фармакології все більше розвивається в галузі попередження різноманітних хвороб для усунення їх негативних наслідків і запобігання стресу для організму. Одним з таких препаратів є Бактобліс – дієтична добавка з пробіотичними властивостями на основі мікроорганізмів *Streptococcus salivarius* BLIS K12, що колонізують ротову порожнину, верхні дихальні шляхи, рото – та носоглотку. *Streptococcus salivarius* BLIS K12 мають властивість вивільняти бактеріоцини (Саліваріцин А2 і Саліваріцин В), тим самим пригнічуючи розвиток патогенної мікрофлори на слизових оболонках. [1].

Матеріали та методи. Згідно річної статистики захворювання на грип та ГРВІ в Україні [2] та аналізу ринку на наявність препаратів зі схожою терапевтичною дією, було визначено оптимальну річну потужність препарату Бактоблісу для забезпечення потреб населення України, розраховано та підібрано основне обладнання для технологічного процесу виробництва препарата Бактобліса на основі біомаси пробіотичних бактерій *Streptococcus salivarius* BLIS K12. Оптимальним поживним середовищем для виробничого біосинтезу є рідке поживне середовище на основі молока, що включає (г/л): сухе молоко – 10; лактоза – 10; пептон – 10; натрій лимоннокислий – 5; натрій оцтовокислий – 5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; $CHCl_3$ – 0,8; NaCl – 0,5; дріжджовий автолізат – 3 (у якості вітамінного комплексу) [3]. Дане поживне середовище повністю задовольняє потреби біологічного агенту у поживних речовинах та дозволяє продукувати зазначені бактеріоцини.

Результати та обговорення. Нами було встановлено, що щорічно в Україні Бактобліс споживали б приблизно 5% населення (125000 осіб). Дане число взято з наступних міркувань:

1. Згідно статистики захворюваності на грип та ГРВІ [2], щорічно хворіють приблизно 2,5 млн осіб.
2. На ринку присутні ще 3 препарати з подібною терапевтичною дією та складом, що залишає Бактоблісу максимум 25% ринку.
3. Візьмемо до уваги, що профілактичні заходи вживають не всі люди з різних причин. Тож, припустимо, що лише 1/3 потенційних споживачів Бактоблісу профілактично прийматиме його. Залишається 8%.
4. Зробимо поправку на новизну та не розповсюдженість Бактоблісу порівняно з іншими подібними препаратами, відповідно маємо 5% ринку – 125000 осіб.

Відповідно до джерела [1], маса таблетки складає 950 мг, 1 таблетка містить: активні інгредієнти: пробіотик Streptococcus salivarius K12 (не менше $1x10^9$ КУО

(не менше одного мільярду життєздатних колоніє утворюючих одиниць в 1 таблетці) – 50 мг. Тривалість прийому за інструкцією складає 30 днів по 1 таблетці на день. Відповідно, на 1 людину щорічно припадає 30 таблеток. Допускаючи, що 125000 осіб застосують препарат, маємо потребу в 125000*30=3750000 штук таблеток. В кожну входить 50 мг біомаси, тож потребуємо 3750000*50=187500000 мг = 187 кг біомаси на рік.

Отже, відповідно до розрахунків щорічна виробнича потужність має забезпечити 187 кг біомаси *Streptococcus salivarius* BLIS K12. Це не є великою кількістю для виробництва, тож кількість трудоднів можна обмежити до 45. Враховуючи, що концентрація біомаси при культивуванні складає 0,7 г/л (кг/м^3), то необхідна кількість культуральної рідини складає 27,5 м^3. Відповідно, за день буде використовуватися 0,6 м^3 культуральної рідини. 1 цикл виробництва (включаючи час культивування та підготовку обладнання) складає 20,5 годин. Помноживши це число на денну кількість культуральної рідини та на коефіцієнт втрат маємо 0,56 м^3 культуральної рідини за цикл. Оскільки коефіцієнт заповнення ферментера складає 0,65, то оптимальним об'ємом ферментера буде стандартний ферментер на 1 м^3. Було встановлено, що для забезпечення виробництва необхідною кількістю біомаси процес біосинтезу необхідно розділити на 4 етапи (вирощування культури в колбах 5 шт по 750 мл, в інокуляторі об'ємом 15 л, в інокуляторі об'ємом 100 л і біосинтез в ферментері об'ємом 1 м^3).

Висновки. За результатами проведених досліджень було визначено оптимальну річну потужність синтезу біомаси *Streptococcus salivarius* BLIS K12 для виробництва препарату Бактобліс. Даний пробіотичний препарат має доведену ефективність та не потребує регулярного вживання (рекомендується приймати в пікові періоди захворюваності), що полегшує процес виробництва, оскільки необхідна не велика кількість препарату, яка може бути вироблена за 45 робочих днів. Тож, нема потреби в будівництві окремого виробництва, можна скористатися вже існуючими та реалізувати виробництво препарата за методом кампаній. За результатами проведеного техніко-економічного обгрунтування дане виробництво є вигідним для українського ринку, оскільки всі інші пробіотичні препарати, що мають схожу терапевтичну дію імпортуються з Європи та США, що сильно підвищує їх ціну, а виробництво Бактоблісу на території України забезпечить економію на експортуванні, не втрачаючи при цьому якості препарату.

Список використаної літератури:

1. Інструкція до препарату «Бактобліс».
2. Захворюваність на грип та ГРВІ в Україні: грудень 2020 року, Центр громадського здоров'я МОЗ України.
3. Бережницька Т.Г., В.В. Ратушняк, Є.Ф. Забейда, Бурушкіна Т.М. Отримання, властивості і застосування бакконцентрату для виготовлення соєво-молочних та соєвих сквашених продуктов. Проблеми харчування, ст. 67-71, 2010 р. [Електронний ресурс]. Режим доступу:https://studylib.ru/doc/2293403/poluchenie--svojstva-i-primenenie-bakkoncentrata-dlya

ПОШУК ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ РОЗВИТКУ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ З МЕТОЮ ВИГОТОВЛЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО ХАРЧОВОГО ПРОДУКТУ

Непошивайленко Н. О.[1], Корнієнко І. М.[2], Анацький А.С.[1], Краснопер Є.Р.[1], Іванова Д.Д.[1]
[1]Дніпровський державний технічний університет, nna2013@ukr.net
[2] Національний авіаційний університет

Вступ. Використання функціональних продуктів харчування є не тільки вирішенням проблеми порушень функціонування різних органів та систем, дисбалансу імунної системи, запобіганням росту захворювань, але й ефективним профілактичним заходом соціального значення для населення України, значна частина якого проживає в екологічно несприятливих регіонах, працюючи в умовах недостатнього й незбалансованого харчування, прийому антибіотиків, шкідливих фізичних та інших негативних впливів [1]. Отже, розробка складу та технології нових видів ефективних функціональних продуктів є актуальним питанням у вирішені проблеми покращення здоров'я населення України, особливо «груп ризику»: дітей, людей похилого віку, людей із послабленою імунною системою та хворих на цукровий діабет [2].

Метою роботи було дослідження різних видів поживного середовища для розвитку молочнокислих бактерій з метою виготовлення функціонального харчового продукту.

Матеріали та методи. Для досліджень даної роботи згідно опрацьованих літературних джерел в якості поживного середовища (сировини) для розвитку молочнокислих бактерій застосовані наступні інгредієнти:

1) фруктове (яблуневе) пюре, виготовлене з яблук, запечених у духовій шафі при температурі 180°С впродовж 20хв. з метою активації пектину, здрібнене у попередньо знезараженому блендері впродовж 15 хв. та охолоджене до температури 40°С,

2) коров'яче молоко вітчизняного виробника жирністю 2,6%, пастеризоване у виробничих умовах, підігріте до температури 40°С,

3) висококонцентрована закваска «Пробіо Йогурт VIVO» для приготування пробіотичного йогурту в домашніх умовах, яка містить 10 видів біфідо- і лактобактерій – *Bifidobacterium lactis* (2 штами), *Bifidobacterium infantis, Lactobacillus acidophilus* (2 штами), *Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus delbrueckii ssp Bulgaricus, Streptococcus thermophilus* пробіотичні властивості деяких з них доведено рядом клінічних досліджень [3].

4) лікарський препарат «Біофлоракс», діючою речовиною якого є лактулоза (1 мл сиропу містить 670 мг лактулози). Препарат безпечний для дітей від 0 років та для людей літнього віку.

Зазначені інгредієнти використано для виготовлення чотирьох проб поживного середовища (сировини) для розвитку молочнокислих бактерій. Кількість інгредієнтів у відповідних пробах наведено в таблиці 1. Протягом усього технологічного процесу виконувався контроль стерильності.

Таблиця 1. Інгредієнти для виготовлення поживного середовища (сировини) щодо розвитку молочнокислих бактерій.

Інгредієнти	Кількість інгредієнту у пробі, г			
	Проба I	Проба II	Проба III	Проба IV
Яблуневе пюре	200	200	200	–
Пастеризоване молоко	–	–	–	200
Закваска «Пробіо Йогурт VIVO»	–	0,25	0,25	0,25
Лактулоза	–	–	10	–

Проведено мікробіологічні дослідження та оцінено результати розвитку молочнокислих бактерій для досліджених зразків (ідентифікація колоній МКБ та визначення їх кількості).

Результати та обговорення.

В ході проведення експерименту спостерігається зростання колоній для усіх зразків проб I – IV. Заселена на поживному м'ясо-пептоновому агарі мікрофлора за попередньою ідентифікацією містить більш світлі за кольором колонії природної мікрофлори вихідної сировини (фруктове пюре, молоко), до яких можна віднести бацили, дріжджі, кокові форми тощо.

Колонії, які віднесено до МКБ, мають значно більш розвинуту поверхню у зразках проби III, до якої окрім заквасок додано пребіотик – лактулозу. На поверхні зразків проби III спостерігається активний розвиток колоній МКБ. Це свідчить про те, що лактулоза виступає специфічним субстратом, на який активно реагують молочнокислі бактерії, які використовують його в якості живлення, що стимулює зростання колоній МКБ. Численне зростання колоній МКБ у зразках проби III дозволяє опосередковано свідчити про наявність сприятливих умов для розвитку даних мікроорганізмів.

На поверхні всіх зразків візуально спостерігається характерний для МКБ ріст колоній. Зазначені мікроорганізми ідентифікували за зразками проб проведених розбавлень 1:10; 1:100 та 1:1000. В таблиці 2 наведені результати візуального розрахунку кількості колоній МКБ. У зразках, отриманих за першим та другим розведенням не можливо провести чіткі підрахунки кількості колоній, оскільки на поверхні зразків спостерігається суцільний ріст колоній, інтенсивність яких збільшена у зразках проб III та IV. Розраховані для цих проб у третьому розведенні кількість колоній утворюючих одиниць від $4 \cdot 10^4$ КУО/см^3 до $8 \cdot 10^4$ КУО/см^3 надає можливість віднести дані поживні середовища до групи функціональних продуктів.

Для зразків проби I та II спостерігається виснажливий ріст колоній, що характеризує даний субстрат як поживний для розвитку МКБ, але без надання додаткових сприятливих умов, його не доречно використовувати в якості функціонального харчового продукту.

Таблиця 2. Результати підрахунку кількості колоній МКБ в дослідних зразках

Номер проби	Кількість колоній у розведеннях, КУО/ $см^3$		
	1:10	1:100	1:1000
I	Найменш інтенсивний суцільний ріст, неможливість підрахунку колоній	64	5
II	Суцільний ріст, неможливість підрахунку колоній	92	11
III	Найбільш інтенсивний суцільний ріст, неможливість підрахунку колоній	Суцільний ріст, неможливість підрахунку колоній	83
IV	Суцільний ріст, неможливість підрахунку колоній	Менш інтенсивний суцільний ріст, неможливість підрахунку колоній	40

Отже, доведена головна мета дослідження – на зразках усіх проб спостерігається розвиток колоній, характерних для МКБ, але на зразках проб I та II з меншою інтенсивністю, що є природним для фруктового субстрату. Для зразків проби III за рахунок забезпечення більш сприятливих умов (додавання закваски та лактулози), розвиток МКБ відбувається найбільш інтенсивно. Навіть у зразках проби IV (молочнокислому йогурті) розвиток колоній МКБ відбувається більш пригнічено у порівнянні з пробою III. Отже, доведено, що фруктове пюре можна використовувати в якості субстрату для культивування МКБ.

Висновки. Визначено ідентичність колоній молочнокислих бактерій та їх життєздатність у зразках дослідженого поживного середовища (сировині), що мають різне біологічне походження – рослинне (фруктове пюре) та тваринне (коров'яче молоко). Встановлено, що за рахунок збагачення зразків поживного середовища пребіотиком лактулозою підвищується титр молочнокислих бактерій у нестандартному для їх розвитку середовищі (яблуневому пюре).

Доведено придатність фруктового пюре в якості сировини для виготовлення функціонального харчового продукту з високим титром молочнокислих бактерій, що підтверджується результатами розрахунків колоній утворюючих одиниць.

Список використаної літератури:

1. Нутриціологія: навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / Дуденко Н.В., Павлоцька Л.Ф., Цихановська І.В. та ін. ; під заг. ред. Н.В. Дуденко. Харків: Світ Книг, 2013. 560 с.

2. Калюжная О.С., Соловйова А.В., Стрілець О.П., Івахненко О.Л., Шаповалова О.В., Стрельников Л.С. Функціональні продукти харчування як перспективні лікувально-профілактичні та дієтичні засоби. Колективна монографія «Загальна теорія здоров'я та здоров'язбереження». Харків: Вид. Рожко С. Г., 2017. С.185 – 194.

3. Сайт офіційного виробника та продавця заквасок VIVO. URL: https://www.zakvaski.com/production/probio-yogurt-vivo.html (дата звернення 22.12.2022).

МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ *STREPTOMYCES ALBUS* ЯК ОСНОВИ ЗАСОБІВ ДЛЯ РОСЛИННИЦТВА

Олянін М.О., Тодосійчук Т.С.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, nikolya.oly@gmail.com

Вступ. Стрептоміцети – грампозитивні аеробні нитчасті бактерії – широко поширені у природі. Представники роду *Streptomyces* активно використовуються як продуценти широкого спектру речовин для промисловості, фармації та аграрної сфери [1]. Вони відомі своєю здатністю синтезувати різноманітні леткі органічні сполуки, які пригнічують ріст патогенних бактерій і грибів, наприклад такі, як диметилсульфід і триметилсульфід. Серед метаболітів культури наявні антибіотики проти паразитів, мікробних фітопатогенів, інсектицидні та гербіцидні сполуки, що робить їх перспективним об'єктом для розробок препаратів та технологій біоконтролю рослин [2, 3].

Тому **метою нашої роботи** був аналіз метаболічного профілю типового представника стрептоміцетів *Streptomyces albus* та оцінка перспектив даного виду для використання в розробках препаратів для аграрної сфери, а також визначення сучасних підходів до створення засобів для біоконтролю сільськогосподарських рослин.

Матеріали і методи. Пошук та систематизація нових наукових даних і результатів щодо метаболічних шляхів синтезу, можливостей виявлення біосинтетичної здатності до продукування біологічно активних речовин, які визначають перспективи використання *Streptomyces albus* для створення агропрепаратів.

Результати та обговорення. Стрептоміцети належать до ризосферних мікроорганізмів, що колонізують рослини, здатні позитивно впливати на життя рослин, покращуючи засвоєння поживних речовин або стимулюючи механізми захисту рослин від патогенів [2, 4]. Водночас відносно недавно було виявлено їх здатність діяти як стимулятори росту рослин. До таких продуцентів належить культура *S. albus*, вплив якої на регуляцію росту рослин раніше передусім пов'язували з синтезом різноманітних ферментів. Натепер тривають дослідження, спрямовані на з'ясуванні ролі *S. albus* у біорегуляції росту рослин та ефективності застосування у рослинництві [5, 6]. Загалом, стрептоміцет даного виду продукує широкий спектр метаболітів, що дає можливість створювати на їх основі препарати комплексної дії і це робить вид перспективним промисловим продуцентом [3].

За останнє десятиліття у зв'язку з розвитком нових методів дослідження в біології стало можливим з'ясувати особливості та додаткові умови виявлення здатності до синтезу різноманітних сполук мікробними культурами ще на рівні їх генетичного аналізу. Саме *S. albus,* як типовий вид роду, став об'єктом багатьох досліджень. Так, проведено секвенування геномів семи штамів *S. albus*, що дало можливість аналізу різноманіття метаболітів культури [7, 8]. Біоінформаційний аналіз ідентифікував загалом 48 унікальних кластерів генів штамів *S. albus*. Вісімнадцять із цих кластерів генів визначають основний вторинний метаболом виду. Чотирнадцять кластерів генів містяться в одному

або кількох штамах і вважаються допоміжними, тоді як 16 кластерів генів кодують продукцію передбачуваних вторинних метаболітів, специфічних для штаму.

Аналіз штамів *S. albus* дозволив припустити, що кожен з них, ймовірно, містить принаймні один специфічний для штаму кластер біосинтетичних генів. Це означає, що різноманіття кластерів генів не вичерпане і продовжуватиме виявляти нові властивості виду [8-10]. У всіх штамах *S. albus* присутні ще 10 генних кластерів, які на рівні роду присутні значно менше. Їх метаболіти містять: кандицидин та полієнову протигрибкову сполуку, інгібітор дихального ланцюга та анти-апоптотичний засіб, антиміцин, антибактеріальний препарат, подібний до граміцидину, летючий антибактеріальний терпеноїд, альбафлавенон та протигрибковий альтерамід. Основний вторинний метаболом *S. albus* містить також п’ять невідомих продуктів, кодованих кластерами генів NRPS (2), PKS типу I PKS (1) і бактеріоцину (2) [7].

Біоінформаційний аналіз показав, що окрім основного метаболому, *S. albus* містить 14 додаткових кластерів біосинтетичних генів, які неоднорідно зберігаються штамами даного виду. Штами *Streptomyces* sp. PVA 94-07 и *Streptomyces* sp. GBA 94-10, містить кластери генів, що кодують біосинтез ентероцину та сполуки, спорідненої кіянаміцину, які є антибактеріальними агентами [11]. Наявні результати досліджень показують, що серед метаболітів *S. albus* залишаються невідомими багато кластерів генів, які потенційно можуть бути корисними для застосування в різних сферах. В тому числі частина цих кластерів може кодувати антибактеріальні сполуки чи пестициди, придатні для розробки агропрепаратів для біоконтролю.

Вивчення біосинтетичної активності штаму *S. albus* J1074 іншими дослідниками показало, що він продукує глікозильовані антибіотики пауломіцини [12]. Використавши прийом інактивації ряду генів і ферментів було встановлено шлях біосинтезу пауломіцинів, а за допомогою комбінаторного біосинтезу були отримані нові похідні пауломіцинів, що несуть модифікації в L-пауломікозній групі. Останні виявили нижчу активність за вихідні сполуки, що підтверджує важливий вплив реакційних груп на активність антибіотиків.

Серед основних напрямків, які сьогодні обрані дослідниками, щоб розкрити біосинтетичний потенціал стрептоміцетів можна виділити наступні [13-15]: високочутливі методи скринінгу на основі антисенс-технологій, генно-інженерне конструювання продуцентів та комбінаторний біосинтез, виділення продуцентів з малодосліджених екотопів. Водночас серед нових відкритих вторинних метаболітів *S. albus* є антибактеріальні біологічно активні сполуки (десферріоксамін, альбафлавенон, летючий антибактеріальний терпеноїд, антибактеріальний препарат, подібний до граміцидину) та пестицид (антиміцин) які використовуються в агровиробництві.

Аналіз специфічної цільової активності агропрепаратів, а особливо умови, в яких вона має виявлятися обумовлюють переваги стрептоміцетів загалом для їх виробництва, оскільки вони є ґрунтовими мікроорганізмами і мають природні механізми адаптації до таких умов.

Висновки. Широкий спектр біологічно активних сполук *Streptomyces albus*, які не лише виявляють активність щодо різного типу негативних факторів розвитку рослин (фітопатогенів, комах, акаридів тощо), а й стимулюють їх ріст, визначає його як цікавий та перспективний об'єкт для розробки комплексних препаратів для рослинництва. Участь стрептоміцетів в процесах мінералізації органічних сполук обумовлюватиме й додаткову дію біопрепаратів на їх основі щодо біоремедіації грунтів. Показаний значний ще не розкритий біосинтетичний потенціал даного виду відкриває можливості різних підходів до модифікації продуцентів або створення генетично-змінених штамів з новими властивостями.

Список використаної літератури:

1. Donald L., Pipite A., Subramani, R. et al. Streptomyces: Still the Biggest Producer of New Natural Secondary Metabolites, a Current Perspective. Microbiol. Res. 2022. No 13. 418–465.
2. Pacios-Michelena S. Aguilar González CN. et al. Application of Streptomyces Antimicrobial Compounds for the Control of Phytopathogens. Front. Sustain. Food Syst. 2021; 5:696518.
3. Biliavska L.O. Actinobacteria of the genus Streptomyces and its metabolites in bioregulation of plants: Doctoral thesis. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine; 2018. 47 p.
4. Le K.D., Yu N.H., Park A.R. et al. Streptomyces sp. AN090126 as a biocontrol agent against bacterial and fungal plant diseases. Microorganisms. 2022. Vol.10 (4). P. 791.
5. Levchyk N., Liubinska A., Todosiichuk T., Rakhmetov J., & Diakova M. The development of biological product or plant growing on the basis of Streptomyces albus. EUREKA: Life Sciences. 2016.Vol. 5. P. 32–39.
6. Левчик Н. Я., Любінська А. В., Герасименко Я. О., Тодосійчук Т. С. Специфічна активність препаратів Streptomyces albus у біорегуляції росту і розвитку рослин огірка. Innovative biosystems & bioengineering. 2018. Vol. 2. No. 2. С. 98–104.
7. Seipke R. F. Strain-level diversity of secondary metabolism in Streptomyces albus. PloS One. 2015. Vol. 10 (1); e0116457.
8. Olano C., García I., González A., et al. Activation and identification of five clusters for secondary metabolites in Streptomyces albus J1074. Microb Biotechnol. 2014. Vol. 7. P. 242–256.
9. Seipke R.F., Patrick E., Hutchings M.I. Regulation of antimycin biosynthesis by the orphan ECF RNA polymerase sigma factor σ (AntA). PeerJ. 2014. Vol. 2. e253.
10. Seipke R.F., Hutchings M.I. The regulation and biosynthesis of antimycins. Beilstein Journal of Organic Chemistry. 2013. Vol. 9. P. 2556–2563.
11. Ian E., Malko D.B., Sekurova O.N., Bredholt H., Rückert C., et al. Genomics of Sponge-Associated Streptomyces spp. Closely Related to Streptomyces albus J1074: Insights into marine adaptation and secondary metabolite biosynthesis potential. PLoS One. 2014. Vol. 9, no. 5. P. 1-11.
12. Gonzalez A. et al. New insights into paulomycin biosynthesis pathway in Streptomyces albus J1074 and generation of novel derivatives by combinatorial biosynthesis. Microbial Cell Factories. 2016. Vol. 15. P. 56.
13. Lee N. et al. Synthetic Biology Tools for Novel Secondary Metabolite Discovery in Streptomyces (Research Article Review). Microbiol. Biotechnol. 2019. Vol. 29(5). P. 667–686.
14.Осташ Б. Сайт-специфічні рекомбінації у генетичній інженерії: новітні технології in vivo. Цитология и генетика. 2010. Vol. 44(4). P. 61–69.
15. Komatsu M., Uchiyama T. et al. Genome-minimized Streptomyces host for the heterologous expression of secondary metabolism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. Vol. 107(6). P. 2646–2651.

ВПЛИВ СУЛЬФАТУ МАГНІЮ ТА ЗАЛІЗА НА РОЗВИТОК *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Оніщенко А.С., Даниленко С.Г.
Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук

Вступ. Склад поживного середовища істотно впливає на розвиток мікроорганізмів. Чинниками, які впливають на цей процес, є концентрація макро- та мікроелементів, присутність та концентрація регуляторів росту.

Перехідні метали мають вирішальне значення для всіх живих систем і беруть участь у процесах, починаючи від каталізу до стабілізації білкової структури та клітинної сигналізації. Відомо, що деякі види лактобацил мають низьку потребу в залізі або взагалі без нього та високий рівень поглинання марганцю [1-3]. У поживному середовищі для культивування повинні знаходитися всі елементи, що входять до складу клітинних речовин. Тому важливо, щоб середовище для культивування містило фактори росту культури.

Метою нашої роботи було дослідження з визначити впливу макро-і мікроелементів на виробничі штами *Lactobacillus plantarum* та оптимізовано їх концентрації для росту таких мікроорганізмів.

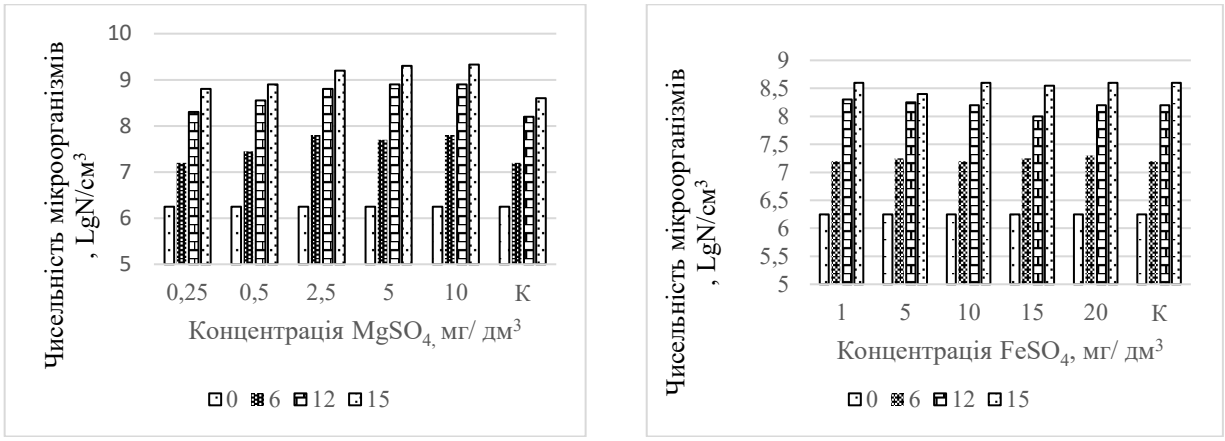
Матеріали та методи. Штам *Lactobacillus plantarum* з колекції мікроорганізмів Інституту продовольчих ресурсів НААН. Для культивування використовувалося рідке поживне середовище 10 г/л триптону, 5 г/л дріжджового екстракту, 10 г/л хлориду натрію. Як джерела мінеральних елементів використовували сульфати марганцю та заліза (двовалентного). До середовища додавали $MgSO_4$ від 0,25 мг/ дм^3 до 10 мг/ дм^3 та $FeSO_4$ від 1 мг/ дм^3 до 20 мг/ дм^3 .

Визначено ріст молочнокислих бактерій шляхом відбору проб з інтервалом у 3 години та посіву на тверде середовище де Ман Рогоза Шарпа (MRS). Чашки інкубували за 37°С, 48 годин за аеробних умов. Після інкубації утворювалися колоній, а результати виражали як КУО/см^2.

Результати та обговорення.

На рис.1 наведено мікробіологічні показники росту *Lactobacillus plantarum* в поживному середовищі з додаванням сульфата магнію (а) та сульфата заліза (б).

Звертає на себе увагу той факт, що $MgSO_4$ був ефективним для лактобацил *L. plantarum.* Збільшення концентрації для пошуку оптимуму не доцільно. Найвища чисельність була досягнута при максимальній протестованій концентрації іонів магнію. Чисельність через 15 годин культивування у контролі становила 8,6, а у досліді з сульфатом магнію (10 мг/ дм^3) – 9,5. Однак спостерігався ріст культури у контрольному середовищі без додавання магнію. Цьому може сприяти використання дріжджового екстракту, та триптону, які містять незначну кількості магнію, який використовувала культура для росту.



а) б)

Рис. 1 Чисельність клітин L. plantarum за різної концентрації мікроелементів у поживному середовищі: а) $MgSO_4$, б) $FeSO_4$

Кількість лактобактерій у всіх дослідних зразках було вище контрольного, що підтверджує можливість інтенсифікації мікробіологічного процесу посередництвом даної солі.

Найкращі показники приросту чисельності *L. plantarum* було отримано у варіанті середовища з додаванням 5 мг/дм^3 $MgSO_4$, зокрема, урожайність молочнокислих бактерій зросла у 11,3 рази порівняно з контролем через 12 годин культивування.

При несенні у поживне середовище між контрольним та дослідним зразками була вищою, ніж за інших доз.

Додавання різної концентрації сульфата заліза не призвело до збільшення кількості клітин молочнокислих бактерій у поживному середовищі порівняно з контролем.

Отримані дані дають підстави рекомендувати використовувати сульфата магнію як промотори росту досліджуваних культур.

Висновки. За результатами проведених досліджень визначено вплив солей заліза і магнію на ріст *L. plantarum*. Значної стимуляції росту не спостерігалося за жодних умов. Ці результати підтверджують абсолютну потребу магнію для оптимального росту лактобацил і непотрібне включення заліза в середовище для росту.

Список використаної літератури:

1. Pandey A, Bringel F, Meyer JM. Iron requirement and search for siderophores in lactic acid bacteria. Appl Microbiol Biotechnol. 1994; 40:735–739. https://doi.org/10.1007/BF00173337.

2. Elli M, Zink R, Rytz A, Reniero R, Morelli L.. Iron requirement of Lactobacillus spp. in completely chemically defined growth media. J Appl Microbiol. 2000; 88:695–703. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01013.x.

3. Imbert M, Blondeau R. On the iron requirement of lactobacilli grown in chemically defined medium. Curr Microbiol. 1998; 37:64–66. https://doi.org/10.1007/s002849900339

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ РЕКОМБІНАНТНОГО ЛЮДСЬКОГО ФОЛІКУЛОСТИМУЛЮЮЧОГО ГОРМОНУ (ФСГ) У СИРОВАТКОВОМУ ТА БЕЗБІЛКОВОМУ КУЛЬТУРАЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Отрода М. С., Тодоров Я. С.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, masha.otroda@gmail.com

Вступ. Фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) — гетеродимерний глікопротеїновий гормон, що виробляється в передній долі гіпофіза. Складається з альфа і бета нековалентно зв'язаних субодиниць, які містять 92 і 111 амінокислот відповідно. Кожна субодиниця є посттрансляційно модифікованою і несе дві вуглеводні структури. Відмінності в цих структурах призводять до мікрогетерогенності та різних форм молекули, які визначають період напіврозпаду та in vivo біологічну активність глікопротеїнів [1]. Відповідно до важливості ролі посттрансляційної модифікації найбільш перспективною виявилася лінія клітин яєчників китайського хом'яка (CHO). Однак, культура клітин ссавців має низку недоліків: складну та трудомістку процедуру культивування, а також низьку продуктивність, що призвело до різних стратегій розвитку виробничого процесу [2]. Одна з таких — заміна середовищ, що містять сироватку, на безбілкові середовища. Це дає кілька переваг: зниження ризику зараження вірусами, пріонами, нижча вартість, спрощена подальша обробка відповідно до меншого вмісту білкових контамінантів [3].

Мета даної роботи — проаналізувати експресію ФСГ в різних культуральних середовищах для досягнення високопродуктивної клітинної лінії.

Матеріали та методи. Методи літературного пошуку: пошук в базах даних (таких як PubMed, Scopus або Web of Science), пошук за допомогою Google Scholar, аналіз бібліографій.

Результати та обговорення. Культури клітин ссавців є поширеними клітинними лініями та містять велику кількість схвалених терапевтичних білкових платформ. Впроваджуються різноманітні стратегії для підвищення достовірності та відтворюваності процесів виробництва. CHO є однією з найбільш перспективних платформ для виробництва рекомбінантного білка, тому багато досліджень було присвячено розробці оптимального середовища для цієї лінії клітин.

Велика кількість біофармацевтичних компаній віддають перевагу застосуванню суспензійної культури високої щільності в безсироваткових, хімічно визначених середовищах, які визначені як економічно ефективні, безпечні та спрощені середовища для подальшої обробки. GibcoTM CD DG44, CD OptiCHOTM і ProCHOTM є деякими поширеними безбілковими середовищами для експресії рекомбінантного білка в клітинах CHO. Прикладами більш спеціалізованих продуктів є Sheff-CHO CD, яке є хімічно визначеним

середовищем без компонентів тваринного походження та білка для посилення виробництва рекомбінантного білка в клітинах CHO [3, 4].

Одне з досліджень чітко показало, що різні клітинні лінії експресують різні рівні мРНК і білка. Результати свідчать про те, що ефект ампліфікації гена в кожній клітинній лінії слід аналізувати незалежно відповідно до властивостей клітинної лінії та культурального середовища. У сукупності адгезивний CHO/dhfr- у сироватці продемонстрував значно нижчу швидкість секреції порівняно з суспензією клітин DG44 у безбілковому середовищі, а rhFSH міг бути більш економічно вироблений клітинною системою DG44 [3].

Середовище, що не містить сироватки, WCM5, було розроблено для широкомасштабного розмноження клітин CHO, які експресують рекомбінантний білок з використанням дигідрофолатредуктази як селективного маркера. Після періоду адаптації ріст клітин і вихід продукту були вищими, спостерігалося 1,9-кратне збільшення експресії білка протягом більш короткого періоду часу, порівняно з тими, які залишалися в середовищі, що містить сироватку [5].

Лінія CHO залежна від закріплення клітиною і потребує адаптації до суспензійної культури. Відомо про вдалі спроби: під час дослідження, проведеного для оцінки функції ФСГ, клітини CHO трансфікували в середовище Ігла, модифіковане Дульбекко, що містить сироватку, і переносили в середовище Ігла (a-MEM) без сироватки та адаптували в суспензії, а потім шляхом створення стабільного клону для подальших досліджень. Проте дослідження показали, що адаптація — завдання не з легких. У звіті процес адаптації клітин CHO до безсироваткових середовищ показав великий вплив на гліканový профіль експресованого рекомбінантного білка, що зумовило необхідність моніторингу якості продукту на ранніх стадіях процесу розвитку [6].

Відповідно до великої кількості досліджень середовищ, також було розроблено широкий спектр оптимізації процесів. Методи профілювання експресії генів, включаючи DHFR/MTX та/або глутамінсинтетазу, є процедурами оптимізації, які, як повідомляється, використовуються в системі CHO. І навпаки, також було продемонстровано, що клітини, оброблені метотрексатом, втрачають здатність виробляти високу кількість білка, ймовірно, через розриви ланцюгів ДНК, індуковані метотрексатом, окисне пошкодження ДНК і високу нестабільність каріотипу. Крім того, застосування підвищеної дози препарату може призвести до незбалансованої ампліфікації різних сегментів плазміди та нестабільності каріотипу. Це явище може, у свою чергу, призвести до низької експресії білка, незважаючи на високу ампліфікацію генів. Переконливі докази отримання високопродуктивних і стабільних клітинних ліній із системою DHFR/MTX роблять її все ще привабливою для платформ виробництва рекомбінантних білків [3].

Висновки. CHO є однією з найбільш перспективних платформ для виробництва рекомбінантного білка, в тому числі людського фолікулостимулюючого гормону. Для підвищення продуктивності і ефективності виробництва застосовуються різноманітні стратегії, включаючи оптимізацію культуральних середовищ та умов вирощування клітин. Згідно з дослідженнями, безбілкові середовища вважаються більш економічно ефективними та безпечними для виробництва рекомбінантних білків в клітинах CHO. Враховуючи різні властивості клітинних ліній та культуральних середовищ, необхідно аналізувати ефект ампліфікації гена в кожній клітинній лінії незалежно. Завдяки численним дослідам розроблено ефективні середовища для широкомасштабного розмноження клітин CHO, які експресують рекомбінантний білок. Подальші дослідження допоможуть розробити ще більш ефективні умови для створення рекомбінантних продуктів.

Список використаної літератури:

1. Product Monograph Gonal-F Follitropin alfa for Injection. URL: https://medinfo.emdserono.ca/content/dam/web/health-care/biopharma/web/MI/en_CA/docs/gonal-f-english-product-monograph-october-2020.pdf.

2. Dalton A. C., Barton W. A. Over-expression of secreted proteins from mammalian cell lines. *Protein Science*. 2014. T. 23, № 5. C. 517–525. URL: https://doi.org/10.1002/pro.2439.

3. Comparative Assessment on the Expression Level of Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone (FSH) in Serum-Containing Versus Protein-Free Culture Media / S. H. Jazayeri et al. Molecular Biotechnology. 2017. Vol. 59, no. 11-12. P. 490–498. URL: https://doi.org/10.1007/s12033-017-0037-4.

4. Kokal S., Liu K. Development of a chemically defined media and a chemically defined feeding strategy for extended growth and enhanced productivity in CHO-K1 and CHO DG44 cultures. ECI Digital Archives. URL: http://dc.engconfintl.org/cellculture_xv/233.

5. Keen M. J., Rapson N. T. Development of a serum-free culture medium for the large scale production of recombinant protein from a Chinese hamster ovary cell line. Cytotechnology. 1995. T. 17, № 3. C. 153–163. URL: https://doi.org/10.1007/bf00749653.

6. Highly expressed recombinant human follicle-stimulating hormone from Chinese hamster ovary cells grown in serum-free medium and its effect on induction of folliculogenesis and ovulation / D.-J. Kim та ін. Fertility and Sterility. 2010. T. 93, № 8. C. 2652–2660. URL: https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.05.009.

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН, СИНТЕЗОВАНИХ *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMB Ac-5017 ЗА НАЯВНОСТІ ДРІЖДЖІВ РОДУ *SACCHAROMYCES*

Охмакевич А.М., Ключка Л.В.
Національний університет харчових технологій,
anastasia01.roza@gmail.com

Вступ. Поверхнево-активні речовини (ПАР) *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, як і ПАР інших родококів, характеризуються нижчою антимікробною активністю порівняно з такою поверхнево-активних аміно-, рамно- та софороліпідів [1].

Попередні дослідження [2] показали можливість підвищення біологічної активності ПАР *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 внесенням у середовище культивування живих клітин бактерій *Bacillus subtilis* БТ-2 та *Escherichi*a *coli* IEM-1. Нечисельні літературні дані свідчать про підвищення біологічної активності ПАР мікробного походження у разі використання не тільки бактеріальних, а також еукаріотичних індукторів у різному фізіологічному стані.

Метою нашої роботи було дослідження біологічної активності поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* IMB Ac-5017, синтезованих за наявності дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1.

Матеріали і методи. Культивування продуцента ПАР разом з індукторами здійснювали в рідкому мінеральному середовищі, як джерело вуглецю використовували етанол 2% (об'ємна частка). Як індуктори використовували живі та інактивовані автоклавуванням клітини дріжджів *S. cerevisiae* БТМ-1, а також відповідний супернатант. Концентрацію позаклітинних ПАР визначали ваговим методом після екстракції модифікованою сумішшю Фолча. Антимікробну активність аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Як тест-культури для дослідження біологічної активності ПАР використовували штами бактерій *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas* sp. MI-2, *B. subtilis* БТ-2, *E.* coli IEM-1 та дріжджів *Candida albicans* Д-6, *Candida utilis* БВС-65 і *S. cerevisiae* БТМ-1 з колекції живих культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій.

Результати та обговорення. Експерименти показали, що незалежно від фізіологічного стану індуктора утворені за його наявності препарати ПАР у широкому діапазоні концентрацій характеризувалися нижчою мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) щодо досліджуваних дріжджових тест-культур порівняно з поверхнево-активними речовинами, одержаними у середовищі без індуктора. Антимікробна активність щодо бактеріальних тест-культур ПАР підвищувалася лише у разі використання як індуктора живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 або відповідного супернатанту.

Так, внесення у середовище культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 супроводжувалося синтезом ПАР, які характеризувалися на порядок нижчими МІК щодо бактеріальних тест-культур (*E. coli* IEM-1, *B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1, *Pseudomonas sp.* MI-2), ніж

поверхнево-активні речовини, одержані без індуктора (10-75 і 75-330 мкг/мл відповідно). Аналогічні закономірності спостерігали щодо дріжджових тест-культур (*C. albicans* Д-6, *C. utilis* БВС-65, *S. cerevisiae* БТМ-1): показники МІК ПАР, синтезованих у середовищі з індукторами і без них становили 1,3-10 та 37,5-300 мкг/мл відповідно.

За наявності у середовищі культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 супернатанту *S. cerevisiae* БТМ-1 синтезувалися ПАР, показники МІК яких щодо бактеріальних і дріжджових тест-культур також були суттєво нижчими порівняно з ПАР, одержаними без індуктора (5,2-82,5 і 37,5-330 мкг/мл відповідно).

Додавання у середовище культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 індуктора у вигляді інактивованих клітин загалом не впливало на антимікробну активність ПАР щодо досліджуваних бактерій (МІК 160-340 мкг/мл), але у той же час супроводжувалося синтезом ПАР з вищою щодо дріжджових тест-культур антимікробною активністю (МІК становили 21,3-170 мкг/мл проти 37,5-300 мкг/мл для препаратів, утворених без індуктора).

Одержані нами дані щодо вищої ефективності живих клітин індуктора та супернатанту щодо бактеріальних тест-культур порівняно з інактивованими клітинами можуть свідчити про те, що індукція потребує як хімічної, так і біологічної взаємодії між продуцентом ПАР та індуктором. Ймовірно, що під час автоклавування відбувається денатурація білків та інших макромолекул клітин індуктора, що частково пригнічує потенційні біохімічні взаємодії.

Висновки. Отже, у результаті проведених досліджень встановлено можливість підвищення антимікробної активності ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017 щодо бактеріальних і дріжджових тест-культур до рівня відомих у світі рамно- та софоролiпідів внесенням у середовище культивування живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 або відповідного супернатанту.

Список використаної літератури:

1. Pirog T.P., Petrenko N.M., Skrotska O.I., Paliichuk O.I. Shevchuk T.A., Iutynska G.O. Practically valuable properties of the Surfactant synthesized by *Rhodococcus* genus *Actinobacteria*, Mikrobiologichnyi Zhurnal. 2020. Vol. 82, No 4. P. 94-109.

2. Pirog T.P., Kluchka L.V., Skrotska O.I., Stabnikov V.P. The effect of co-cultivation of *Rhodococcus erythropolis* with other bacterial strains on biological activity of synthesized surface-active substances. Enzyme and Microbial Technology. 2020. Vol. 142, P.109677.

ОСОБЛИВОСТІ ВИЯВЛЕННЯ ГЕНА ЗЕЛЕНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БІЛКА (*gfp*) В РОСЛИНАХ ТЮТЮНУ ТА КУКУРУДЗИ МЕТОДОМ ПЛР

Палеха Д.Ю.[1], Нітовська І.О.[2]
[1]ННЦ "Інститут біології та медицини" КНУ ім. Тараса Шевченка, ydimona21@gmail.com
[2]Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, вул. Академіка Заболотного, 148, Київ, 03143

Вступ. Репортерні гени, які полегшують візуалізацію та кількісне вимірювання трансгенного білка, використовують для визначення впливу умов трансформації на експресію трансгена. Одним із таких репортерних генів, що часто застосовують в дослідженнях з генетичної трансформації рослин, є ген зеленого флуоресцентного білку (GFP) медузи *Aequorea victoria*. Окрім гену дикого типу (*gfp*), в дослідженнях також використовують синтетичний (*pgfp*) та мутантний синтетичний ген, який має заміну серину на треонін (*S65Tpgfp*) чи на цистеїн (*S65Cpgfp*) в 65-й позиції гена *pgfp* [1]. Експресія синтетичних генів *gfp,* зазвичай приводить до більш яскравої флуоресценції порівняно з геном *gfp* дикого типу. Метою нашої роботи було дослідити виявлення гена *gfp* різних модифікацій у геномі трансгенних рослин тютюну та кукурудзи методом ПЛР.

Матеріали та методи. В дослідженні використовували ДНК трансгенних рослин тютюну сорту Petit Havana та кукурудзи гібриду F_1 КП7×ПРЖ5 української селекції, які були отримані в результаті *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації рослинного матеріалу за допомогою вектора pCB271 або pICH5290 [2]. Вектор pCB271 містив мутантний ген зеленного флуоресціюючого білку *S65Tpgfp,* тоді як Т-ДНК вектору pICH5290 мала в своєму складі ген *gfp* дикого типу.

Для аналізу наявності гену *gfp* в рослинній ДНК методом ПЛР використовували три пари праймерів (табл. 1). Праймери зберігались у вигляді розчинів концентратів 10 мМ у стерильному ТЕ буфері pH 8,0 при температурі – 20 °С.

Таблиця 1. Послідовність праймерів, використаних в дослідженні

Назва	Послідовність	Розмір амплікону п.н.
1F1R	5′-TGAGGCTCAAGTTGACATGC-3’ 5’-TTCGTAGCAGCATCAAGGTG-3’	700
2F2R	5′-GACGTGAACG GCCACAAGTTCA-3′ 5′-CGATG CGGTTCACCAGGGTGT-3′	311
3F3R	5′-ATGCCACCTACGGAAAGCTC-3′ 5′-GATGC GGTTCACCAGGGTAT-3′	263

Реакційна суміш для ПЛР (20 мкл) містила 0,5 одиниць FIREPol® ДНК-полімерази (Solis BioDyne, Естонія), 2 мкл 10× буферу B, 1,6 мкл 25 мМ MgCl2,

200 мкМ кожного дНТФ, 0,5 мкМ кожного форвардного і реверсного праймера і 30 нг очищеної сумарної ДНК. Програма ампліфікації для виявлення гена *gfp* була задана наступним чином: денатурація 94°С – 4 хв, 34 цикли (денатурація 94°С – 30 с, ренатурація 56°С – 30 с, елонгація 72°С 45 с), завершення елонгації 72°С – 4 хв. Для пари праймерів 1F1R було використано стандартну програму без змін. При проведенні аналізу за допомогою пари праймерів 2F2R у програмі було збільшено температуру ренатурації до 59°С та зменшено час елонгації з 45 до 30 с. Для пари праймерів 3F3R температуру на етапі ренатурації було зменшено до 55°С, а час етапу елонгації до 20 с. Електрофорез продуктів ампліфікації проводили в 1,0% або 2,0 % агарозному гелі приготованому в 1xLB (lithium borate) буфері. Етидій бромід використовували для візуалізації ДНК. Для візуалізації ампліконів в гелі використовували джерело УФ–світла (Transilluminator 2011 Macrovue, Швеція) та фотоапарат Canon EOS 600D (Китай).

Результати та обговорення. При проведені аналізу рослинної ДНК щодо присутності гена *gfp* методом ПЛР за допомогою трьох пар праймерів були отримані наступні результати.

Пара праймерів 1F1R взаємодіяла лише з геном *gfp* дикого типу. За допомогою цієї пари був виявлений амплікон потрібного розміру в ДНК трансгенного тютюну, отриманого за допомогою вектору pICH5290.

Пара праймерів 2F2R взаємодіяла з геном *gfp* різних модифікацій. Амплікони очікуваного розміру були візуалізовані як після аналізу ДНК трансгенних тютюну і кукурудзи, отриманих за допомогою вектора pCB271, так і в ДНК тютюну, одержаного після трансформації вектором pICH5290. Ця пара праймерів краще взаємодіяла з ДНК рослин тютюну, ніж із зразками кукурудзи. При візуалізації в агарозному гелі в ультрафіолетових променях, амплікони, отримані в результаті аналізу ДНК тютюну, спостерігали з більшою інтенсивністю порівняно з ампліконами, отриманими при аналізі зразків кукурудзи. Це явище може бути пов’язано або зі спорідненістю праймерів 2F2R до інших ділянок геному кукурудзи, або з частковим порушенням доступу праймерів до нуклеотидної послідовності гена через, наприклад, його метилювання. Здійснення низхідної ПЛР приводило до покращення візуалізації амплікону очікуваного розміру, проте це покращення було незначним.

Пара праймерів 3F3R взаємодіяла лише з модифікованим мутантним геном *S65Tpgfp*, що знаходився в ДНК рослин тютюну, але майже не взаємодіяла зі зразками кукурудзи. Останній факт може вказувати на сильну спорідненість цієї пари праймерів до інших ділянок геному отриманих зразків кукурудзи. Також не спостерігали амплікону потрібного розміру при аналізі масиву рослинного матеріалу за допомогою цієї пари праймерів ДНК тютюну, яка містила ген *gfp* дикого типу. Оскільки очікуваний розмір амплікону при використанні пари праймерів 3F3R є невеликий (табл. 1) та може знаходяться занадто близько до загального переднього фронту низько молекулярної фракції в гелі, в дослідженні для покращення візуалізації ампліконів малого розміру було застосовано агарозні гелі з різною концентрацією агарози: 1 та 2 %. Збільшення концентрації гелю до 2 % дозволило краще візуалізувати отримані амплікони малого розміру.

Отже, кожна із досліджуваних пар праймерів по-різному взаємодіяла з досліджуваним геном *gfp,* який знаходився в ДНК рослин тютюну або кукурудзи. Використання пари праймерів 1F1R дозволило виявляти в геномі рослин тільки ген *gfp* дикого типу. За допомогою пари праймерів 3F3R можна було ідентифікувати лише мутантний синтетичний ген *S65Tpgfp*, що знаходився в ДНК тютюну, але не в зразках кукурудзи. Пара праймерів 2F2R виявилась універсальною, за допомогою якої можна було виявляти обидві модифікації гена *gfp* як в тютюні, так і в кукурудзи.

Висновки. В результаті проведеного дослідження було показано, що праймери до гена *gfp* можуть бути як вузько специфічні (за допомогою яких можна виявляти тільки одну модифікацію гена), так і універсальні (можна виявляти більше однієї модифікації гена). Так, наприклад, пари праймерів 1F1R (5′-TGA GGC TCA AGT TGA CAT GC-3’ та 5’-TTC GTA GCA GCA TCA AGG TG-3’) та 3F3R (5′-ATGCC ACCTA CGGAA AGCTC-3′ та 5′-GATGC GGTTC ACCAG GGTAT-3′) є вузько специфічними, за допомогою яких можна виявляти тільки ген *gfp* дикого типу, або мутантний синтетичний ген *S65Tpgfp* відповідно. Тоді, як пара праймерів 2F2R (5′-GACGT GAACG GCCAC AAGTT CA-3′ та 5′-CGATG CGGTT CACCA GGGTG T-3′) є універсальною і дозволяє виявляти в геномі рослин обидві модифікації гена *gfp.* Це знання може бути корисним при швидкому та дешевому скринінгу великих масивів отриманого рослинного матеріалу на присутність гена *gfp,* що часто використовується в біотехнології рослин як репортерний ген. Універсальні праймери дозволять швидко виявити всі модифікації гена в рослинному матеріалі, а вузько специфічні допоможуть з’ясувати походження трансгена.

Встановлено, що праймери можуть мати специфічність стосовно виду рослин. Так, наприклад, за допомогою пари праймерів 3F3R можна виявляти ген *S65Tpgfp* в ДНК тютюну, але не кукурудзи. Набуте знання допоможе уникнути хибних висновків стосовно відсутності трансгена в рослинному матеріалі, тоді, як насправді, він там може бути присутнім.

Знайдено універсальну пару праймерів 2F2R, за допомогою якої можна виявляти ген *gfp* різних модифікацій в рослинах тютюну та кукурудзи. Отримані знання є корисними без оптимізації векторних конструкцій та умов трансформації з метою отримання трансгенних рослин кукурудзи ліній та гібридів української селекції.

Список використаної літератури:

1. Pang S.-Z., DeBoer D.L., Wan Y., Ye G., Layton J.G., Neher M.K., Armstrong C.L., Fry J.E., Hinchee M.A., Fromm M.E. An improved green fluorescent protein gene as a vital marker in plants. Plant Physiol. 1996, 112(3):893-900.

2. Nitovska I.O., Vasylenko M.Yu., Morgun B.V. Effect of monocot introns on transgene expression in genus Nicotiana plants.//Biotechnogia acta - 1918. – N 4. – P. 69-79.

ДЕСТРУКЦІЯ БІОПЛІВОК ПІД ВПЛИВОМ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН, СИНТЕЗОВАНИХ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ІМВ В-7241 ЗА НАЯВНОСТІ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* БТМ-1

Парфенюк М.А.[1], Іванов М.С.[1], Пирог Т.П.[1,2]
[1]Національний університет харчових технологій,
parfeniukmasha@gmail.com
[2]Інститут мікробіології та вірусології НАНУ

Вступ. Біоплівки, що утворюються на медичних імплантах та медичних приладах, є серйозною проблемою в медичних закладах, тому що призводять до серйозних інфекцій у пацієнтів. Так, бактерії роду *Staphylococcus* у складі біоплівок характеризуються високою резистентністю до антибіотиків [1]. Дріжджі *Candida albicans* утворюють високоструктуровані біоплівки, що складаються з різних типів клітин (круглих дріжджоподібних, що брунькуються; овальних псевдогіфальних; витягнутих циліндричних гіфальних), укладених у позаклітинний матрикс [2]. Сечові та центральні венозні катетери, кардіостимулятори, механічні серцеві клапани, протези суглобів, контактні лінзи та зубні протези потребують обробки біоцидами для унеможливлення формування на них біоплівок [1, 2]. Завдяки своїй комплексній біологічній активності мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) є перспективними агентами для деструкції бактеріальних і дріжджових біоплівок [3]. Важливо, що біологічну активність мікробних ПАР можна підвищити в результаті спільного вирощування продуцента ПАР з так званими біологічними індукторами (конкурентними мікроорганізмами), які активують мовчазні кластери біосинтетичних генів. Зазвичай індукторами є живі або інактивовані клітини бактерій, проте останніми роками збільшується кількість досліджень щодо використання еукаріотичних індукторів.

Метою даної роботи було дослідити здатність до руйнування мікробних біоплівок поверхнево-активними речовинами, синтезованими *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за наявності дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1.

Матеріали і методи. Культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 проводили у рідкому середовищі з відходами виробництва біодизелю у концентрації 5% (об'ємна частка). Як біологічний індуктор використовували дріжджі *S. cerevisiae* БТМ-1 у вигляді суспензії живих, інактивованих клітин та відповідного супернатанту. Індуктор вносили на початку процесу культивування. Визначення концентрації ПАР здійснювали ваговим методом після екстракції з супернатанту культуральної рідини модифікованою сумішшю Фолча. Ступінь деструкції бактеріальних і дріжджових біоплівок за дії поверхнево-активних речовин визначали спектрофотометрично.

Результати та обговорення. Встановлено, що незалежно від фізіологічного стану індуктора (живі або інактивовані клітини чи відповідний супернатант), синтезовані за його наявності поверхнево-активні речовини *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 характеризувалися вищою здатністю до деструкції біоплівок більшості з досліджуваних тест-культур порівняно з препаратами, утвореними у середовищі без індуктора (таблиця).

Найефективнішими індукторами виявилися живі клітини або супернатант *S. cerevisiae* БТМ-1: їх внесення у середовище культивування продуцента супроводжувалося синтезом поверхнево-активних речовин, за дії яких спостерігали повне (на 100 %) руйнування біоплівки *Staphylococcus aureus* БМС-1 і *Candida tropicalis* РЕ-2, а деструкція біоплівок *Bacillus subtilis* БТ-2 і *Enterobacter cloacae* С-8 досягала 77-88 %, що у 1,7-2 рази вище за показники, встановлені для ПАР, одержаних у середовищі без індукторів.

Таблиця 1. Руйнування мікробних біоплівок за дії ПАР (440 мкг/мл), синтезованих за наявності *S. cerevisiae* БТМ-1

Фізіологічний стан індуктора	Ступінь деструкції (%) біоплівок			
	Enterobacter cloacae С-8	*Bacillus subtilis* БТ-2 (спори)	*Staphylococcus aureus* БМС-1	*Candida tropicalis* РЕ-2
Контроль (без індуктора)	54,6	57,6	55,7	54,6
Супернатант	82,2	76,7	100	100
Живі	70,5	88,3	100	100
Інактивовані	54,1	81,2	57,5	87,2

Висновки. У результаті проведеної роботи встановлено, що внесення у середовище культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 дріжджів *S. cerevisiae* БТМ-1 дає змогу підвищити здатність синтезованих за таких умов культивування поверхнево-активних речовин до руйнування бактеріальних і дріжджових біоплівок.

Список використаної літератури:

1. Otto M. *Staphylococcal* biofilms. Microbiology spectrum 2018; 6(4): 6-4.

2. Nobile C. J., Johnson A. D. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. Annual Review of Microbiology 2015; 69(1): 71–92.

3. Percival S. L., Mayer D., Kirsner R. S., Schultz G., Weir D., Roy S., Romanelli M. Surfactants: Role in biofilm management and cellular behaviour. International wound journal 2019; 16(3): 753-760.

ПІДБІР ПРАЙМЕРІВ ДЛЯ ГЕНІВ ФЕРМЕНТІВ СИНТЕЗУ ГЕМА В ДРІЖДЖАХ *S. CEREVISIAE* ATCC-18824

Підкурганна О.Г., Зелена Л.Б., Шульга С.М.
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України

Вступ. Гем — залізовмісний порфірин, кофактор гемоглобіну, цитохромів, та інших білків. В харчовій промисловості його застосовують як барвник та ароматизатор. Гемоглобін є важливим для медицини і використовується як переносник кисню в штучних замінниках крові.

Біологічні функції гема пов'язані переважно із киснем в процесах зв'язування, транспорту та протидії активним формам оксигену. Синтез гема в клітинах усіх живих організмів починається з амінолевуленової кислоти і склалає серію з восьми ензиматичних реакцій. У еукаріотичних організмів цей метаболічний шлях є консервативним, в той час як серед бактерій існує кілька альтернатив.[1]

Виділення гему та гемовмісних білків з природних джерел є малоефективним і складним, тому є інтерес до створення технології виробництва на основі різних мікроорганізмів.[2,3,4,5,6]

Дріжджі *S.cerevisiae* мають довгу історію використання в харчовому виробництві і загальновизнані безпечними. Добре досліджений геном та низка молекулярно-генетичних інструментів розроблених для його модифікації роблять їх зручним об'єктом для створення продуцентів рекомбінантних білків.

Надекспресія всіх або частини генів ферментів задіяних в синтезі гему необхідна для створення штамів-продуцентів гему та гемоглобінів. Ефективною стратегією є вставка додаткових копій відповідних генів у геном.

Метою роботи було розробити праймери та отримати у вигляді ПЛР продукту копії восьми генів з геному дріжджів.

Матеріали та методи. В експерименті використовувався типовий штам дріжджів S.cerevisiae ATCC-18824 (Y-2519) отриманий з Української колекції мікроорганізмів. Геномну ДНК із дріжджів виділяли за допомогою LiOAc-SDS. [7] Дизайн праймерів проводився за допомогою програми SnapGene та бази даних GeneBank. Попередній аналіз послідовностей праймерів виконано за допомогою програми BLAST. Ампліфікацію проводили за допомогою Mastercycler Personal 5332 (Eppendorf, Germany).

Результати та обговорення. Синтез гема в клітинах дріжджів відбувається в серії із восьми ферментативних реакцій. Гени цих восьми ферментів відомі - HEM1 (синтаза амінолевуленової кислоти), HEM2 (дегідратаза амінолевуленової кислоти), HEM3 (деаміназа порфобіліногену), HEM4 (синтаза уропорфіриногену III), HEM12 (декарбоксилаза уропорфіриногену), HEM13 (оксидаза копропорфіриногену), HEM14 (оксидаза протопорфіриногену), HEM15 (ферохелатаза).

Для створення прямого праймера обрано послідовність в 19 нуклеотидів матричного ланцюга на початку гена, включно із старт-кодоном. До 5'-кінця додано фрагмент із 11 нуклеотидів, що містить сайт розпізнавання рестриктазою *Bsm*BI (*Esp*3I). Для створення зворотнього праймера обрано послідовність 19-20

нуклеотидів кодуючого ланцюга на кінці гена, включно зі стоп-кодоном. До 5'-кінця додано фрагмент з 13 нуклеотидів, що також містить сайт розпізнавання рестриктазою *Bsm*BI (*Esp*3I)(Табл. 1). Додаткові фрагменти потрібні для того, щоб після обробки ПЛР-продукту рестриктазою *Bsm*BI (*Esp*3I) утворились липкі кінці 5`-tatg-3`(на початку) та 5`-ggat-3`(в кінці), сумісні з промотором та термінатором з Mo-Clo YTK.[8]

Перевірка послідовності праймерів (без доданих фрагментів) здійснена програмиою BLAST підтвердила їх специфічність і показала формування продукту ДНК відповідного розміру (див. таблицю 1). Олігонуклеотидні послідовності праймерів синтезовано на замовлення у компанії Invitrogen (Thermo Fisher,США).

Таблиця 1. Послідовності підібраних праймерів для генів ферментів синтезу гема в дріжджах *S.cerevisiae* ATCC-18824.

Ген	Послідовність праймерів (F-forward, R-reverse)	Розмір, п.н.
HEM1	F – gagcgtctcgtatgcaacgctccatttttg R – gagcgtctcgggattactgcttgataccacta	1647
HEM2	F – gagcgtctcgtatgcatacagctgaatttt R – gagcgtctcgggattagttttcttcatctaacc	1029
HEM3	F – gagcgtctcgtatgggccctgaaactctac R – gagcgtctcgggatcatttgattctgtctaaa	984
HEM4	F – gagcgtctcgtatgtctagtcgtaaaaaag R – gagcgtctcgggattatttatggcgctggtat	828
HEM12	F – gagcgtctcgtatgggtaactttccagctc R – gagcgtctcgggattacttcgaaccaattctg	1089
HEM13	F – gagcgtctcgtatgcctgcccctcaagatc R – gagcgtctcgggattatttaacccactctctt	987
HEM14	F – gagcgtctcgtatgttattaccattaacaa R – gagcgtctcgggattatttgcttagctgtaagg	1620
HEM15	F – gagcgtctcgtatgctttccagaacaatcc R – gagcgtctcgggatcaagtagattcgtgattg	1182

Враховуючи температуру плавлення створених праймерів та розмір очікуваного продукту було підібрано режим ПЛР (Табл. 2).

Таблиця 2. Умови проведення ПЛР

Етап	Температура, °C	Час	Кількість циклів
Початкова денатурація ДНК	95	2хв.	1
Денатурація ДНК	95	30сек.	30
Відпалювання праймерів	55	45сек.	
Елонгація ДНК	72	1хв.45сек.	
Фінальна елонгація	72	7хв.	1

В результаті проведеної ПЛР було отримано по одному продукту очікуваного розміру для кожної пари праймерів. Візуалізацію проведено на 1% агарозному гелі (Рис.1).

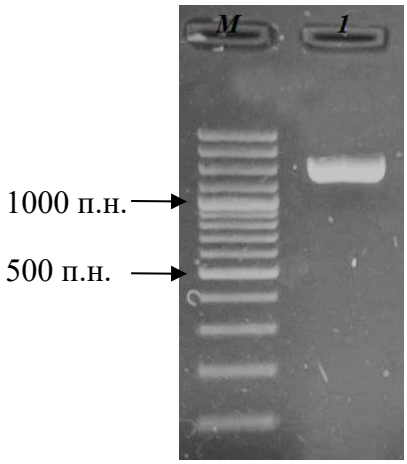


Рис.1. Електрофореграма продуктів ампліфікації з праймером до гену HEM1, де M – це маркер молекулярної ваги, 1 – зразок.

Висновки. В результаті проведених досліджень підібрано праймери та отримано кодуючі послідовності генів HEM1, HEM2, HEM3, HEM4, HEM12, HEM13, HEM14, HEM15 дріжджів *S.cerevisiae* ATCC-18824. Перевірка послідовності праймерів здійснена програмою BLAST підтвердила їх специфічність і показала формування продукту ДНК відповідного розміру. Комбінації цих генів слугуватимуть підґрунтям для створення кассет під контролем індуцибельних промоторів, та інтеграції їх в геном за допомогою CRISPR-Cas9.

Список використаної літератури:

1. Dailey H, Dailey T, Gerdes S, et al. Prokaryotic Heme Biosynthesis: Multiple Pathways to a Common Essential Product. Microbiology and Molecular Biology Reviews 2017; 81(1):e00048–16.

2. Zhao XR, Choi KR, Lee SY. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for secretory production of free haem. Nature Catalysis 2018; 1:720–728.

3. Ko YJ, Kim M, You SK, et al. Animal-free heme production for artificial meat in *Corynebacterium glutamicum* via systems metabolic and membrane engineering. Metabolic Engineering 2021; 66:217–228.

4. Liu L, Martinez JL, Liu Z, et al. Balanced globin protein expression and heme biosynthesis improve production of human hemoglobin in Saccharomyces cerevisiae. Metabolic Engineering 2014; 21:9–16.

5. Shankar S, Hoyt MA, inventors; Impossible Foods Inc., assignee. Expression Constructs and Methods of Genetically Engineering Methylotrophic Yeast. United States Patent 009938327B2. 2018 Apr 10.

6. Shao Y, Xue C, Liu W, et al. High-level secretory production of leghemoglobin in *Pichia pastoris* through enhanced globin expression and heme biosynthesis. Bioresource Technology 2022; 363:127884.

7. Looke M, Kristjuhan K, Kristjuhan A. Extraction of genomic DNA from yeasts for PCR-based applications. BioTechniques 2011; 50(5):325–328.

8. Lee ME, DeLoache WC, Cervantes B, et al. A highly characterized yeast toolkit fir modular, multipart assembly. ACS Synthetic Biology 2015; 4:975–986.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ МЕХАНІЗМІВ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ПРЕПАРАТІВ МЕТАБОЛІТІВ ЛАКТОБАКТЕРІЙ

Піць В.В.[1], Соловйов С.О.[1,2], Трохименко О.П. [1,2]
[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського, vadimpitsofficial@gmail.com
[2] Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика

Вступ. Нормальна мікрофлора кишечника людини виконує ряд найважливіших функцій [1], однією з яких є створення колонізаційної резистентності, свого роду бар'єру на слизовій оболонці травного тракту. При виникненні і розвитку дісбіотічних порушень в кишечнику відбувається зниження колонізаційної резистентності, що приводить до підвищення сприйнятливості до інфекційних захворювань. Провідним підходом в корекції цих порушень є вживання препаратів, виготовлених на основі пробіотичних штамів лактобактерій – характерних представників нормальної мікрофлори кишечника, які володіють здатністю позитивно впливати на організм людини, відновлюючи і стабілізуючи збалансований склад мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту. Останнім часом з'явилось досить підстав розглядати кишечник як частину імунної системи [2], оскільки значна частина лімфоїдної тканини зосереджена в кишечнику. Після потрапляння чужорідних антигенів в шлунково-кишковий тракт імунокомпетентні клітини відповідають викидом прозапальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлини (ФНП) [3], що здійснюють подальшу регуляцію імунної відповіді. Саме тому актуальним є дослідження зміни клітинного циклу під впливом препаратів лактобактерій в умовах викиду ФНП в клітинній моделі in vitro. Метою дослідження було з’ясування принципового характеру впливу продуктів метаболізму пробіотичних штамів лактобактерій на параметри клітинного циклу клітин в присутності фактору запалення.

Матеріали і методи. Об’єктом дослідження були екзогенні метаболіти (культуральні рідини) штамів лактобактерій *L. delbrueckii subsp. lactis LE* (далі - LE), з музею мікробіологічних культур кафедри промислової біотехнології та біофармації КПІ імені Ігоря Сікорського. Для створення клітинної моделі in vitro було використано поверхнево-залежну клітинну лінію карциноми гортані людини Нер-2. Для моделювання запальної дії використовували фактор некрозу пухлин ФНП. Для вивчення параметрів клітинного циклу використовували реагенти пропідій йодид, акридиновий помаранчевий та Анексин V, які входять до складу стандартних наборів для вивчення клітинного циклу.

Вивчення цитотоксичної дії препаратів метаболітів лактобактерій проводили в перерахунку на концентрацію білку в культуральній рідині кожного зразка. Для дослідження впливу пробіотичних препаратів метаболітів лактобактерій на параметри клітинного циклу в моделі in vitro готували суспензію клітин Нер-2 в посівній концентрації $5 \cdot 10^5$ клітин/мл. По 1 мл суспензії клітин вносили в кожну лунку культурального 24-лункового планшету і культивували впродовж 24 годин при 37°С в атмосфері 5% CO_2 до формування

моношару. Через 24-72 години культивування вносили по 0,1 мл розчину ФНП (500 нг/мл), розчин пробіотичних препаратів метаболітів лактобактерій та їх комбінації. Клітини інкубували впродовж 24 годин при 37°С в атмосфері CO_2. Оцінку параметрів клітинного циклу проводили методом проточної цитофлюориметрії на цитофлюориметрі Partec Pas.

Результати та обговорення. В результаті дослідження було показано, що при дії ФНП, препарату метаболітів лактобактерій та цих речовин разом на молоду культуру клітин, відносна кількість живих клітин була значно вищою за контроль, що свідчить про стимуляцію життєздатності молодої культури. За тих самих умов впливу, всі досліджувані препарати не впливали на життєздатність зрілої популяції епітеліальних клітин та пригнічували життєздатність старіючих клітин.

При інкубуванні культури одночасно з ФНП та препаратами метаболітами лактобактерій, кількість клітин в G1-фазі як в молодій культурі, так і в зрілій та старіючій практично співпадала з контролем. При спільній дії ФНП та препаратів метаболітів лактобактерій на клітини культури, не залежно від ступеня їх зрілості, відносна кількість клітин у цій фазі циклу не відрізняється від аналогічних значень в контролі (табл. 1).

Таблиця 1. Зміна параметрів циклу культури клітин Hep-2 протягом часу під дією різних чинників.

Препарат / Параметр	LE			ФНП			LE(к)+ФНП			Контроль		
	24 год.	48 год.	72 год.	24 год.	48 год.	72 год.	24 год.	48 год.	72 год.	24 год.	48 год.	72 год.
Кількість клітин в клітинному циклі, %	84.64	70.88	48.18	85.94	83.16	43.14	87.1	78.12	45.94	88	82.3	66.18
G1-фаза, %	78.59	66.47	64.26	77.84	80	65.53	76.6	74.84	67.64	75.34	73.68	63.6
s-фаза, %	7.65	15.44	15.52	6.94	5.3	17.42	5.5	8.2	15.06	6.24	8.19	14.1
G2/M-фаза, %	13.76	18.09	20.22	15.22	14.7	17.05	17.9	16.96	17.3	18.42	18.13	22.3
Цитокінетичний параметр $\frac{G1}{s+G2/M}$	3.671	1.982	1.749	3.513	4.0	1.901	3.27	2.974	2.09	3.055	2.8	1.747
Живі клітини, %	73.30	60.34	35.53	65.37	67.28	34.08	68.68	57.82	34.52	57.3	60.40	57.2

Оскільки збільшення відносної кількості клітин в G1-фазі циклу характеризує зниження проліферативної активності культури, блокування переходу клітин у фазу синтезу ДНК, одержані результати свідчать про відновлення проліферативної активності всієї популяції клітин під впливом препаратів метаболітів лактобактерій і внаслідок цього про зменшення негативного впливу ендотоксинів. Проведені дослідження можна розглядати як моделювання впливу ендотоксинів і запальних процесів на епітелій кишечника.

З огляду на зазначене вище можна передбачити, що під впливом ФНП, тобто при запаленні, ендотоксикозі тощо, шар епітеліальних клітин кишечнику стає більш уразливим до дії чужорідних агентів. Можна передбачити, що під впливом препарату метаболітів лактобактерій кількість чутливих клітин знижується і разом з тим, що дуже важливо, нормалізується проліферативна активність всієї клітинної популяції кишечнику. Вплив ФНП також помітно пригнічується при дії досліджуваних препаратів лактобактерій. Це означає, що застосування препаратів метаболітів лактобактерій потенційно може зменшувати запальні процеси в кишечнику.

Висновки.

Досліджено вплив одержаного препарату метаболітів лактобактерій *L. delbrueckii subsp. lactis LE* на клітинний цикл в клітинній моделі in vitro на прикладі культури клітин Нер-2 різного ступеня зрілості. Встановлено збільшення проліферативної активності клітин під впливом даного препарату. Показано, що порівняно з контрольною культурою кількість проліферуючих клітин під дією ФНП знижувалась, а при спільній дії ФНП та препарату метаболітів лактобактерій кількість проліферуючих клітин нормалізувалась не залежно від віку культури. Встановлено, що метаболіти стимулюють проліферативну активність молодих, зрілих та старих клітин, як окремо так і в спільній дії з прозапальним цитокіном ФНП. Отримані дані дозволяють розробити та надалі використати універсальну модель життєвого циклу клітин епітелію кишечника при використанні препаратів на основі пробіотичних штамів лактобактерій в майбутніх системних дослідженнях протизапальної дії пробіотиків.

Список використаної літератури:

1. Смотрова, Н.Г., Несміян, В.С., Громов, М.О. Вплив мікрофлори шлунково-кишкового тракту на загальний стан здоров'я людини. / Неперервна освіта для сталого розвитку: філософсько-теоретичні контексти та педагогічна практика: Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції. 03-04 грудня 2021 р., м. Дніпро, КЗВО «ДАНО» ДОР». СПД «Охотнік», Дніпро, 2021, С. 353-356.

2. Marushko, Y., Hyshchak, T., & Chabanovich, O. (2021). The Main Mechanisms of the Effect of Intestinal Microflora on the Immune System and Their Importance in Clinical Practice. Family Medicine, (4), 19–27. https://doi.org/10.30841/2307-5112.4.2021.249409

3. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-α) in Autoimmune Disease and Current TNF-α Inhibitors in Therapeutics / D.-i. Jang та ін. International Journal of Molecular Sciences. 2021. Т. 22, № 5. С. 2719. URL: https://doi.org/10.3390/ijms22052719.

ІНАКТИВОВАНІ ВАКЦИНИ ПРОТИ ВІРУСУ SARS-COV2 НА ПРИКЛАДІ CORONAVAC BIOTECH

Прилуцький С.П.
ТОВ «Юрія-Фарм»

Вступ. У 2019 році на території КНР почався сплеск епідемії вірусу SARS-Cov2. Вірус провокував розвиток патології COVID-19, симптоматика якої характеризувалася в основному ураженням легень формуючи пневмонію різних стадій. Перед людством постало завдання термінового створення ефективних засобів лікування проти вірусу і незабаром, у швидкому темпі були створені перші вакцини від інфекції за різними технологіями та принципами дій.

Матеріали та методи: проведено аналіз даних літературних джерел вітчизняних та іноземних дослідників по питанням технології створення, умовам введення, зберігання та ефективності використання інактивованої вакцини на прикладі CoronaVac Biotech проти вірусу SARS-Cov2.

Результати. Не дивлячись на інтенсивне створення вакцин від коронавірусної інфекції, науково-дослідницький та виробничий процес був дотриманий за найвищими показниками стерильності та безпечності виготовлення. Були проведені всі 4 фази клінічних випробувань в найкоротші терміни оскільки інтенсивність інфікованих пацієнтів постійно збільшувалося [1]. Найперша вакцина яка вийшла на фармацевтичний ринок була інактивована вакцина CoronaVac Biotech від компанії Sinovac. Отримана шляхом щеплення клітин Vero (ниркових клітин африканської зеленої мавпи) коронавірусом SARS-Cov2. Виготовлювалася за такою послідовністю: культивування, отримання вірусної рідини, її інактивації (видалення РНК), очищення та абсорбція інактивованої субстанції гідроокисом алюмінію [2]. Вакцина є чутливою до факторів зберігання, перевезення та використання у випадку розщеплення препарату. CoronaVac від компанії Sinovac транспортується при температурі +2 – 8^{o}C, заморожуванню не підлягає, а при розщепленні ампули треба обов’язково її використати в цей же час. Для формування базового імунітету необхідним є введення 2-ох доз препарату з інтервалом 14-28 діб, об’єм кожної дози – 0,5 мл [3, 4].

Географічні дані ефективності використання інактивованої вакцини серед населення були визначені у чотирьох країнах станом на 2021 рік. Найбільш популярною серед споживачів дана вакцина виявилася у Туреччині, Індонезії, Бразилії та Україні. Популярність серед споживачів до даної вакцини вірогідно зумовлене її простим складом та безпечністю, на відміну від складно-структурних мРНК вакцин Pfizer, Moderna. Різниця у результатах ефективності дії інактивованої вакцини може свідчити про різницю рівня захворюваності у регіонах на COVID-19, це явище цілком може обумовлювати різницю у відсоткових статистичних даних з підвищеним рівнем результативності дії вакцини (рис. 1) [4].

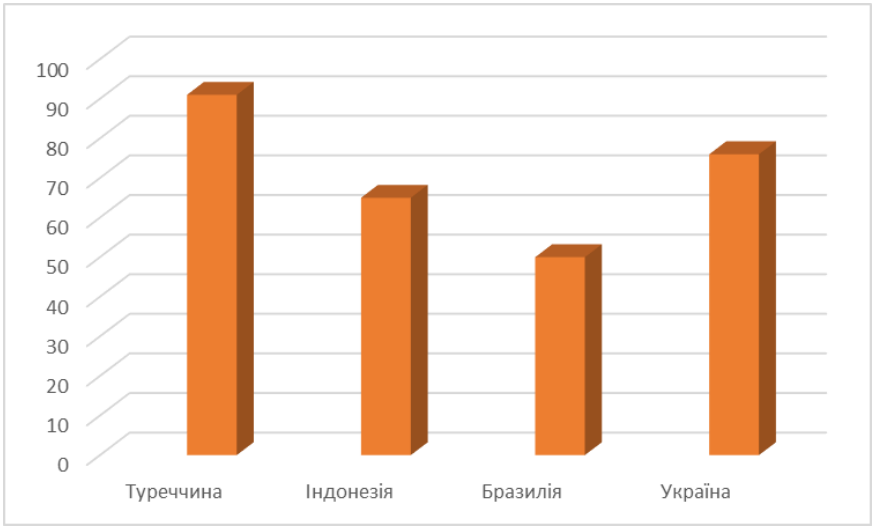


Рис 1. Тенденція ефективності дії інактивованої вакцини CoronaVac серед споживачів різних країн [1, 4]

Не дивлячись на простий склад вакцини, вона має ряд серйозних протипоказань до введення. Це пацієнти, що мають: патології ЦНС (демієлінізація головного мозку, синдром Гієна – Барре, поперечний мієліт, пошкодження мієлінового шару); серйозні неконтрольовані нозологічні форми хронічних патологій, жінкам під час вагітності та лактації [5]. При введені внутрішньовенного імуноглобуліну не рекомендується робити щеплення раніше 1 місяця після отримання препарату.

Висновки. Інактивована вакцина CoronaVac Biotech від компанії Sinovac є цілком безпечним та ефективним вакцинним препаратом для боротьби з вірусом SARS-Cov2.

Список використаної літератури:

1. Gao Q., Bao L., Mao H., Wang L., Xu K., Yang M., Qin C. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*, 369 (6499). 2020. P. 77-81.

2. Pavel S. T. I., Yetiskin H., Uygut M. A., Aslan A. F., Aydın G., İnan Ö., Ozdarendeli A. Development of an inactivated vaccine against SARS CoV-2. *Vaccines*, 9(11). 2021. P. 1266.

3. Інструкція для медичного застосування лікарського засобу. Вакцина для профілактики COVID-19 (вирощена з використанням клітин Vero), інактивована. 2021. http://adv-storage.biz/liki/instr/36261.pdf.

4. Чернишова Л.І, Чернишов А.В Порівняльна характеристика вакцин проти COVID-19. *Актуальна інфектологія*. 2021. С. 5-9

5. Івахів О.Л., Вишневська Н.Ю., Ішнюк І.С Вакцинація від COVID-19: очікування, реалії і перспективи. *Інфекційні хвороби*. (1) 2021. С. 53-64.

ВИДІЛЕННЯ ПОЛІГІДРОКСИБУТИРАТУ З МІКРООРГАНІЗМІВ ТА СПОСОБИ ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ ЯК БІОМАТЕРІАЛУ

Прозор А. В., Країло О. О.
КПІ ім. І. Сікорського, prozor-bf11@lll.kpi.ua, krailo-bf11@lll.kpi.ua, lutsenko.tetiana@lll.kpi.ua

Вступ. Серйозним наслідком стрімкого зростання виробництва та споживання пластмас у всьому світі є утворення великих обсягів використаних пластикових відходів. Згідно з останніми даними, опублікованими Plastics Europe [9], світове виробництво пластику в 2015 році досягло майже 322 метричних тонн. з річним темпом зростання 8,4%. Усі ці проблеми вказують на серйозну шкоду екосистемі. Біополімери або полімери, отримані з природних джерел, вийшли на ринок як екологічно чисті матеріали, що завдають мінімальної шкоди гармонії, що існує в екосистемі. Більшість біополімерів в даний час знаходять своє застосування в біомедичних сферах, упаковці, текстилі, споживчих товарах, сільському господарстві, автомобілях і транспорті. Один з матерілів, що використовуються для створення біополімерів, – полігідроксибутират. Полігідроксибутирати накопичуються в багатьох мікроорганізмах як сполуки, що накопичують енергію та вуглець, в умовах обмеженого надходження поживних речовин. Ці речовини є біологічно розкладаними полімерами, які можуть замінити полімери, отримані з природніх копалин [6].

Матеріали та методи. Аналітичний огляд статей та базової літератури на теми: полігідроксибутирати, біотехнологічні особливості їх отримання та використання у медицині.

Результати та обговорення. Полігідроксіалканоати (PHA) — це група лінійних поліефірних біополімерів, які виробляються бактеріями під час ферментації цукрів і ліпідів, які накопичуються в клітинах, які є накопичувачами вуглецю та енергії, за умов дефіциту поживних речовин і надлишку джерела вуглецю [8]. PHA було виявлено в Bacillus megaterium, які синтезуються та зберігаються як грампозитивними, так і грамнегативними бактеріями у вигляді нерозчинних біополімерів [4]. Полі(3-гідроксибутират) (PHB) є гомополімером 3-гідроксибутирату та найважливішим членом сімейства термопластичних полігідроксіалканоатів, що біологічно розкладаються, з характеристиками високої температури плавлення, високого ступеня кристалічності та низької проникності для O_2, H_2O та CO_2.

PHB є гарною заміною синтетичного полімеру, а його механічні властивості можна порівняти з властивостями поліпропілену. PHB має характеристики термопластичності та здатності до біологічного розкладання, що привернуло комерційну увагу. PHB має великий потенціал для упаковки харчових продуктів із кращими властивостями бар'єру для водяної пари, ніж поліпропілен, і кращими властивостями бар'єру для кисню, ніж поліетилентерефталат і поліпропілен [1].

Найважливішим фактором у виробництві PHB є те, що їх біологічне виробництво з непоповнюваних джерел бактеріальними системами відбувається

як у грампозитивних, так і в грамнегативних бактерій за умови дисбалансу поживних речовин [5].

Біосинтез PHB мікробами відбувається за рахунок концентрації подвійних молекул ацетил-КоА, що призведе до утворення ацетоацетил-КоА, який у подальшому конденсується до гідроксибутирил-КоА. Цей кінцевий комплекс буде використаний як єдине ціле для синтезу PHB. Частинки PHA потім вилучаються, порушуючи структуру клітини.

PHA накопичуються рядом типів бактерій під час нестабільних умов росту. Молекулярні структури PHB діють як енергетичні резервні можливості та встановлюються, коли бактерії перебувають у середовищі, що складається з надлишку вуглецю, і не вистачає будь-яких поживних речовин. PHB виробляється з бактерій, що утворюють ацетил-КоА, за допомогою дії потрійних ферментів. По-перше, 3-етотіолаза (ген phbA) каталізує побудову вуглець-вуглецевого зв'язку шляхом конденсації двох молекул ацетил-КоА. По-друге, ацетоацетил-КоА-редуктаза (НАДФН-залежна) каталізує відновлення ацетоацетил-КоА до R-3-гідроксибутирил КоА. По-третє, фермент PHB-синтаза каталізує полімеризацію R-3-гідроксибутирил-КоА з утворенням PHB. Механізм утворення PHB показано на рисунку 2.

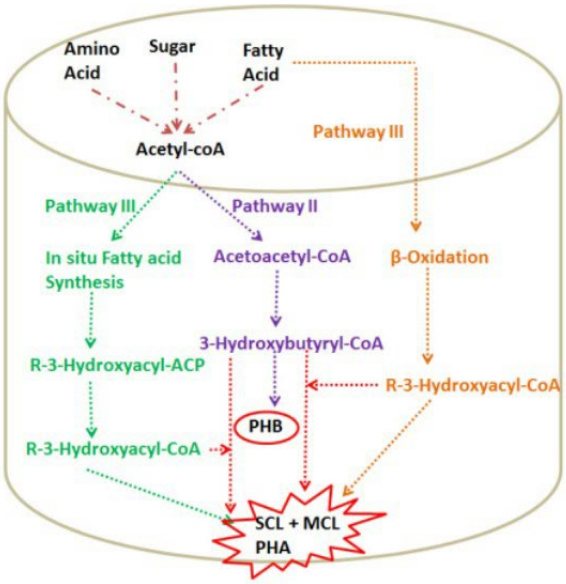


Рис. 1. Механізм утворення PHB [7].

За допомогою реакції біосинтезу ацетил-КоА утворюється частково кристалоподібний полімер PHB, подібний до поліпропілену та поліетилену.

Основні властивості PHB, такі як біосумісність, здатність до біологічного розкладу та багатоцільове використання, позначають його як біологічну допоміжну речовину для штучних полімерів [7].

PHBs мають досить хорошу біосумісність порівняно з багатьма іншими матеріалами, що є достатнім для використання цих біорозкладаних полімерів для виготовлення імплантатів, які контактують з м'якими тканинами, кістками та кров'ю відповідно до стандартів ISO 10993 [2]. Проте порівняння реакції тканин на PHB і синтетичні поліефіри PLA, PGA або їх кополімери показало, що PHB викликає або легку, або помірну реакцію тканин. У більшості випадків PHB та

його кополімери характеризуються хорошою біосумісністю при використанні в якості імплантованих біоматеріалів [3]. Стандартний тест на реакцію тканин на підшкірну імплантацію РНВ та його кополімерів у формі плівки, який використовується в протоколах доклінічних досліджень, виявляє легку або помірну реакцію на сторонній матеріал. Тонка фіброзна капсула (~ 100 мкм) формується протягом місяця і розсмоктується після біодеградації зразків [3].

У багатьох дослідженнях виявлено низьку кількість лімфоцитів або їх фактичну відсутність (зокрема, Т-лімфоцитів) у місці інсерції РНВ, що вказує на те, що імунна реакція на цей полімерний біоматеріал значно знижена або відсутня. Було продемонстровано, що глибоко очищені РНВ також виявляють добру гемосумісність, тому їх можна використовувати для виготовлення кровоконтактних медичних виробів: пластирів для стінки перикарда, легеневої артерії та правого передсердя, а також біорозкладаних коронарних стентів [10]. Проте особливо яскраво біосумісність проявляється при використанні пристроїв на основі РНВ (наприклад, пористих каркасів для регенерації кісткової тканини). Імплантація пристроїв на основі РНВ в ділянку дефекту кісткової тканини не супроводжується утворенням сполучнотканинної капсули, що відокремлює полімерний матеріал від кісткової тканини, що спостерігається для багатьох медичних біоприладів (наприклад, з PLA). Іншими словами, РНВ повністю інтегрується в кісткову тканину.

Завдяки високій біосумісності РНВ є перспективним матеріалом для використання в клітинній біології та клітинній інженерії. Різні клітини ссавців (фібробласти людини та миші, мезенхімальні стовбурові клітини щура, миші та людини, остеобласти кісткової тканини кролика, клітини остеогенної саркоми людини, хондроцити в суглобовому хрящі кролика та клітини гладких м’язів кролика) демонструють хороший рівень клітинної адгезії, проліферації та життєздатності під час культивування in vitro на плівках на основі РНВ або пористих каркасах [3]. Нано- та мікрочастинки РНВ та його кополімерів не мають цитотоксичної дії на різні клітини в концентраціях нижче 1 мг/мл [39, 40]; їх ендоцитоз можуть здійснювати не лише макрофаги, а й остеобласти, фібробласти та епітеліальні пухлинні клітини [2]. Водночас цитотоксичність наночастинок PLA і PLGA не була виявлена лише при концентраціях нижче 66–100 мкг/мл, але була сильно виражена при концентраціях вище 100 мкг/мл. Водорозчинні олігомери ПГБ, що складаються з ~ 25 залишків 3-гідроксибутирату, кон’югованих з ліпоїдною кислотою, також не мали in vitro цитотоксичної дії на кератиноцити в концентраціях нижче 9 мкг/мл [10].

Висновки. До плюсів цього біоматеріалу можна віднести: нерозчинність у воді та відносна стійкість до гідролітичного розкладання (це відрізняє його від більшості інших доступних в даний час біорозкладних пластиків, які або водорозчинні, або чутливі до вологи, хороша проникність для кисню), хороша стійкість до ультрафіолету, але погана стійкість до кислот та лугів, розчинність у хлороформі та інших хлорованих вуглеводнях, біосумісність і, отже, він підходить для медичного застосування, міцність на розрив 40 МПа, близька до такої у поліпропілену. Ці всі властивості полігідроксибутирату роблять його прекрасним конкурентом на ринку біоматеріалів.

Список використаної літератури:

1. R. A. J. Verlinden et al. Bacterial synthesis of biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of Applied Microbiology*. 2007. Vol. 102, no. 6. P. 1437–1449. URL: https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03335.x .

2. Z. Luo et al. Biodegradable Gelatin Methacryloyl Microneedles for Transdermal Drug Delivery. *Advanced Healthcare Materials*. 2018. Vol. 8, no. 3. P. 1801054. URL: https://doi.org/10.1002/adhm.201801054 .

3. A. P. Boskhomdzhiev et al. Biodegradation kinetics of poly(3-hydroxybutyrate)-based biopolymer systems . A. P. Boskhomdzhiev et al. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. 2010. Vol. 4, no. 2. P. 177–183. URL: https://doi.org/10.1134/s1990750810020083 .

4. S. Sreedevi, et al. Bioplastics: Advances in Polyhydroxybutyrate Research. *Advances in Polymer Science*. 2014. URL: https://doi.org/10.1007/12_2014_297.

5. J. M. Luengo et al. Bioplastics from microorganisms. *Current Opinion in Microbiology*. 2003. Vol. 6, no. 3. P. 251–260. URL: https://doi.org/10.1016/s1369-5274(03)00040-7 .

6. Du C., Webb C. Cellular Systems. *Comprehensive Biotechnology*. 2011. P. 11–23. URL: https://doi.org/10.1016/b978-0-08-088504-9.00080-5.

7. O. Elezi et al. Food Additive Lactic Acid Production by Immobilized Cells ofLactobacillus brevison Delignified Cellulosic Material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003. Vol. 51, no. 18. P. 5285–5289. URL: https://doi.org/10.1021/jf0262211 .

8. E. Grousseau et al. Impact of sustaining a controlled residual growth on polyhydroxybutyrate yield and production kinetics in Cupriavidus necator. *Bioresource Technology*. 2013. Vol. 148. P. 30–38. URL: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.120 .

9. Plastics – the Facts 2016. An analysis of European plastics production, demand and waste data. *PlasticsEurope*. URL: https://plasticseurope.org/wp-content/uploads/2021/10/2016-Plastic-the-facts.pdf.

10. M. Pontailler et al. Polymer-Based Reconstruction of the Inferior Vena Cava in Rat: Stem Cells or RGD Peptide? M. Pontailler et al. *Tissue Engineering Part A*. 2015. Vol. 21, no. 9-10. P. 1552–1564. URL: https://doi.org/10.1089/ten.tea.2014.0254 .

ОПТИМІЗАЦІЯ МЕТОДИКИ ЕНЗИМ-ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ У ПЛАЗМІ КРОВІ ДОНОРІВ ЗА УМОВИ НАЯВНОСТІ АНТИ-SARS-CoV-2 IgG

Рачковська А.М., Креницька Д.І., Калашнікова М.В.
ННЦ «Інститут біології і медицини»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка
вул. Глушкова 2, м. Київ, Україна, 02000
e-mail: tonia01128@gmail.com

Вступ. Дослідження ферментативної активності за допомогою ензим-електрофоретичних методів представляє собою неабияку цінність як для наукових, так і для біотехнологічних доробок, що є одним з важливих етапів при вдосконаленні вже існуючих та впровадженні нових біотехнологічних продуктів. В умовах сьогодення – пандемія COVID-19 – глобальною проблемою біотехнологічної галузі є швидка та ефективна розробка потенційних лікарських засобів для боротьби з вірусом SARS-CoV-2: від препаратів для захисту від інфекційного ураження – вакцини, до препаратів для лікування пост-COVID-19 патологічних станів. Зважаючи на те, що SARS-CoV-2 інфекція може призвести до порушень процесів згортання крові, особлива увага наразі зосереджується на пошуку нових терапевтичних засобів, що є перспективними для лікування коагулопатій у пост-COVID-19 періоді. Тим не менш одним із важливих аспектів для раціонального виробництва таких препаратів є дослідження активності протеолітичних ферментів у кровотоці. З економічної точки зору доцільним є попередня оптимізація методики ензим-електрофорезу для практичного використання при оцінці ферментативної активності у зразках плазми крові.

Таким чином **мета нашої роботи** – це модифікація методики ензим-електрофорезу з використанням фібриногену як субстрату для аналізу ферментативної активності у плазмі крові донорів за умови наявності анти-SARS-CoV-2 IgG.

Матеріали та методи. У дослідженні взяли участь здорові люди, які одужали від COVID-19 3-6 місяців тому та погодилися стати донорами плазми крові для біотехнологічних цілей компанії «БІОФАРМА-ПЛАЗМА» (Київ, Україна). Плазму крові було перевірено низкою стандартних скринінгових тестів для виключення патологічних станів. Нам було передано плазму крові донорів з визначеними титрами анти-SARS-CoV-2 IgG для наукових досліджень. З плазми крові донорів було отримано еуглобулінові фракції двома способами: перший – без додавання стрептокінази; другий – зі стрептокіназою, необхідної для активації плазміногену. Стандартний буфер для приготування електрофоретичних зразків об’ємом 50 мкл було додано до отриманих еуглобулінових фракцій. Ензим-електрофорез проводили згідно з методикою [1] з відповідними модифікаціями.

Результати та обговорення. У ході оптимізації методики ензим-електрофорезу для вивчення ферментативної активності у плазмі крові донорів було досліджено та модифіковано такі параметри – концентрація електрофоретичних зразків, концентрація фібриногену як субстрату,

концентрація розділяючого гелю, тривалість електрофоретичного розділення, час інкубації гелю для проявлення ферментативної активності.

Перш за все необхідно було визначити концентрація фібриногену як субстрату для цільових протеолітичних ферментів, що потенційно присутні у плазмі крові досліджуваних груп. Встановлено, що оптимальна концентрація фібриногену складає 1 мг/мл. Екпериментальним шляхом з'ясовано, що найбільш доцільно використовувати концентрацію розділяючого гелю 12 % з метою запобігання міграції фібриногену як субстрату крізь гель. Для ензим-електрофоретичного дослідження еуглобулінових фракцій без додавання стрептокінази найбільш ефективне розведення електрофоретичних зразків становить у співвідношенні 1:8, за якого спостерігали найефективніше проявлення ферментативної активності. Тоді ж для еуглобулінових фракцій зі стрептокіназою – 1:16.

Окрім наведеного вище, також було з’ясовано, що оптимальна тривалість електрофоретичного розділення після виходу лінії бромфенолового синього за межі гелю становить 10 хвилин. Для ліквідації залишків додецилсульфату-натрію отримані гелі інкубували у розчині 2,5 % Тритон Х-100 протягом години. Подальша інкубація у Трис-HCI буфері (pH 7,4) відбувалася при 37 °С упродовж 12 годин для проявлення ферментативної активності. Фіксацію та фарбування гелів здійснювали згідно з стандартним протоколом [2]. Оптимізація методики ензим-електрофорезу з використанням фібриногену як субстрату забезпечує проведення дослідження протеолітичної активності ферментів у плазмі крові за умови наявності анти-SARS-CoV-2 IgG. Отримані результати наведені на Рис. 1-2.

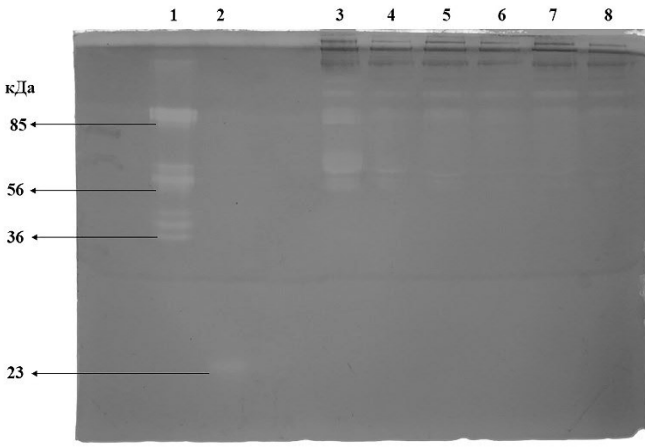


Рис. 1. Типова ензим-електрофореграма еуглобулінових фракцій, отриманих з плазми крові донорів, без стрептокінази: 1, 2 – маркери; 3-8 – дослідні зразки

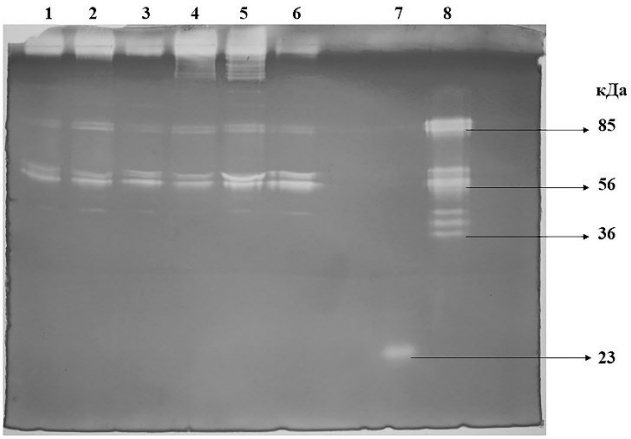


Рис. 2. Типова ензим-електрофореграма еуглобулінових фракцій, отриманих з плазми крові донорів, зі стрептокіназою: 1-6 – дослідні зразки; 7, 8 - маркери

Відповідно до результатів дослідження, у плазмі крові донорів присутні білкові фракції з ферментативною активністю у різному діапазоні молекулярних мас, серед яких найбільшу протеолітичну активність виявляють молекули плазмінового пулу (36-85 кДа), Рис. 1. Більше того, на Рис. 2 за умови додавання стрептокінази у плазму крові для потенційної активації у повній мірі молекул

плазмінового походження показано зростання ферментативної активності порівняно з Рис. 1. Крім того, отримані результати свідчать про появу протеолітичної активності у складі білкових фракцій з молекулярною масою > 85 кДа, що можуть бути комплексними сполуками, утвореними молекулами плазмінового походження, та представляють окремий інтерес у подальших дослідженнях.

Обрахунок ензим-електрофореграм дозволяє нам проаналізувати та порівняти отримані результати ферментативної активності серед різних груп донорів. У Табл. 1 представлено узагальнюючі результати порівняння груп донорів з титрами анти-SARS-CoV-2 0 та ≥ 10 ± 3 Index (S/C).

Таблиця 1. Відсоткове співвідношення білків різної молекулярної маси, що виявляють ферментативну активність у зразках плазми крові донорів з різними титрами анти-SARS-CoV-2 IgG

Група	Зразки без стрептокінази			Зразки зі стрептокіназою		
	> 85 кДа	85-36 кДа	< 36 кДа	> 85 кДа	85-36 кДа	< 36 кДа
Донори з титром анти-SARS-CoV-2 IgG 0 Index (S/C)	36,7 %	63,3 %	0 %	31,3 %	68,7 %	0 %
Донори з титром анти-SARS-CoV-2 IgG ≥ 10 ± 3 Index (S/C)	18,0 %	55,6 %	26,4 %	71,4 %	28,6 %	0 %

Отож правильний підбір методики ензим-електрофорезу з метою аналізу активності протеолітичних ферментів у плазмі крові є важливим етапом для діагностики порушень процесів згортання крові у людей, які одужали від COVID-19. Також що є не мало важливим – цей метод може знайти застосування на різних етапах біотехнологічних розробок за участі білкових молекул, що володію ферментативною активністю.

Висновки. Такий підхід постановки та проведення ензим-електрофорезу з використанням фібриногену як субстрату є ефективним за необхідності дослідження ферментативної активності цільових білкових молекул у плазмі крові донорів за умови наявності анти-SARS-CoV-2 IgG. Модифікована нами методика ензим-електрофорезу забезпечує можливість детекції ферментативної активності переважно молекул плазміноген/плазміну та їх аномальних форм, що може стати перспективним у дизайні нових біотехнологічних препаратів.

Список використаної літератури:

1. Ostapchenko, L., Savchuk, O., Burlova-Vasilieva, N. (2011). Enzyme electrophoresis method in analysis of active components of haemostasis system. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2 (1), pp. 20-26.

2. Protein Electrophoresis. (1999). Technical manual, Amersham Biosciences Inc.

ОСОБЛИВОСТІ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ТЕРАПЕВТИЧНИХ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ У ЛИСТКАХ ВИЩИХ РОСЛИН

Савченко Т.А., Гринюк І.І.
НТУУ «КПІ ім. Ігоря Сікорського», savchenko.timothy@lll.kpi.ua

Вступ. Виробництво моноклональних антитіл у клітинах ссавців передбачає використання поживних середовищ, що містять дороговартісні компоненти, зокрема інсулін [1], у зв'язку із чим значно зростає вартість кінцевої продукції. Використання рослин у якості біологічного агента для експресії білків має ряд переваг: передбачає скорочення витрат, оскільки вони не потребують специфічних та складних умов культивування, рослини вважаються безпечнішими, порівняно з іншими системами експресії, оскільки не виробляють ендотоксинів і не підтримують ріст вірусів чи пріонів, які інфікують людей [2].

Однак, існує проблема у відмінностях механізму посттрансляційного N-глікозилювання білків у рослинах порівняно з N-глікозилюванням білків у ссавців, що негативно впливає на якість експресованих у рослинних організмах моноклональних антитіл.

Метою роботи є дослідження особливостей використання вищих рослин для виробництва терапевтичних моноклональних антитіл.

Матеріали та методи. Дослідження проводилося шляхом аналізу наукової літератури із використанням міжнародних наукометричних баз даних Scopus, National Center for Biotechnology Information, PubMed.

Результати та обговорення. У якості рослинного біологічного агента для експресії моноклональних антитіл широко використовують *Nicotiana benthamiana*, яка має високу трансформаційну здатність [2].

Особливістю процесу N-глікозилювання у клітинах рослин є активність ензимів α1,3-фукозил трансферази та β1,3-ксилозил трансферази, що виконують функцію внесення у N-глікани, відповідно, α1,3-фукози та β1,3-ксилози, які відсутні у людських глікопротеїнах. У зв'язку із цим, моноклональні антитіла глікозильовані цими цукрами можуть володіти антигенністю та призводити до імунної відповіді при їх потраплянні в організм людини [3]. Зважаючи на це, для отримання терапевтичних моноклональних антитіл у рослинах повинні бути видалені механізми фукозилювання та ксилозилювання, та включена здатність до галактозилювання, для збереження стабільності [4] глікопротеїнів для їхнього застосування у медицині.

У роботі [5] із використанням сучасного підходу «нокауту» генів за допомогою технології модифікації геному CRISPR/Cas9 отримали лінії *Nicotiana benthamiana*, які позбавлені α1,3-фукозил трансферазної та β1,3-ксилозил трансферазної активності та не здійснювали N-глікозилювання. При цьому, такі зміни не вплинули на фенотип модифікованих рослин.

Внесення генів, які відповідають за експресію моноклональних антитіл і β1,3-ксилозил трансферази здійснюють за допомогою вектору *Agrobacterium tumefaciens* у Т-ДНК ділянці плазміди pEAQ-HT *Nicotiana benthamiana* [2].

Для цього застосовували спільну експресію β1,4-галактозил трансферази і цільового моноклонального антитіла, оскільки експресія генів β1,4-галактозил

трансферази під час росту рослин може спричиняти відставання у рості та інші негативні фенотипові зміни [6]. Тому, обробку рослин здійснюють після достатнього вегетативного росту. Для цього стебла разом із листками занурюють у суспензію вектору *Agrobacterium tumefaciens*, досягають вакууму в камері та повертають до атмосферного тиску не виймаючи з суспензії, що дозволяє здійснювати рівномірну обробку великої кількості рослин [7]. У роботі [8] було показано, що після внесення залишків β1,4-галактози при N-глікозилюванні зростала стабільність антитіл, а здатність до зв'язування була такою ж як в антитіл, які отримані з клітин яєчників китайського хом'яка.

Висновки. Отже, технологія отримання терапевтичних моноклональних антитіл у листках вищих рослин полягає в:

– «нокауті» генів, які відповідають за типове рослинне N-глікозилювання протеїнів та накопичення калусу генетично модифікованої *Nicotiana benthamiana*;

– отриманні окремих рослин з калусу обробкою фітогормонами;

– вирощуванні рослин та внесенні генів, що кодують цільове антитіло разом із β1,4-галактозил трансферазою за допомогою *Agrobacterium tumefaciens*;

– накопиченні моноклональних антитіл у листках рослин, збиранні листків, гомогенізації біомаси, виділенні та очистці готового продукту методами ультрафільтрації та хроматографії.

Така технологія виробництва терапевтичних моноклональних антитіл у клітинах рослин є перспективною з точки зору підвищення стабільності антитіл та зменшення витрат на таке виробництво.

Список використаної літератури:

1. Ritacco F.V., Wu Y., Khetan A. Cell culture media for recombinant protein expression in Chinese hamster ovary (CHO) cells: History, key components, and optimization strategies // Biotechnology Progress. Wiley, 2018. Vol. 34, № 6. P. 1407–1426.

2. Alonso A.D. Transient Gene Expression Seeds Plant-Based Bioproduction Systems // Genetic Engineering & Biotechnology News. Mary Ann Liebert Inc, 2019. Vol. 39, № 3. P. 54–56.

3. Jin C. et al. A plant-derived human monoclonal antibody induces an anti-carbohydrate immune response in rabbits // Glycobiology. Oxford University Press (OUP), 2007. Vol. 18, № 3. P. 235–241.

4. Zhou Q., Qiu H. The Mechanistic Impact of N-Glycosylation on Stability, Pharmacokinetics, and Immunogenicity of Therapeutic Proteins // Journal of Pharmaceutical Sciences. Elsevier BV, 2019. Vol. 108, № 4. P. 1366–1377.

5. Jansing J. et al. CRISPR/Cas9-mediated knockout of six glycosyltransferase genes inNicotiana benthamianafor the production of recombinant proteins lacking β-1,2-xylose and core α-1,3-fucose // Plant Biotechnology Journal. Wiley, 2018. Vol. 17, № 2. P. 350–361.

6. Tague B.W., Mantis J. <i>In Planta Agrobacterium</i>-Mediated Transformation by Vacuum Infiltration // Arabidopsis Protocols. Humana Press. P. 215–224.

7. Schneider J. et al. Characterization of plants expressing the human β1,4-galactosyltrasferase gene // Plant Physiology and Biochemistry. Elsevier BV, 2015. Vol. 92. P. 39–47.

8. Strasser R. et al. Improved Virus Neutralization by Plant-produced Anti-HIV Antibodies with a Homogeneous β1,4-Galactosylated N-Glycan Profile // Journal of Biological Chemistry. Elsevier BV, 2009. Vol. 284, № 31. P. 20479–20485.

ВПЛИВ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА БІОМАСУ *ACUTODESMUS DIMORPHUS* (TURPIN) TSARENKO

Середюк А.Г., Чебан Л.М.
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
l.cheban@chnu.edu.ua

Вступ. Біомаса зелених водоростей є цінним джерелом різноманітних метаболітів – ліпіди, білки, пігменти, ензими, токсини, тощо. Перспективним є напрям підвищення синтезу клітинами водоростей одного або двох метаболітів. Регулюючи склад середовища, створюючи стресові умови і додаючи інші фізичні або хімічні чинники впливу, можна досягти суттєвого накопичення не тільки біомасі, але і цінних нутрієнтів. Один із чинників, який можна застосувати для впливу на кількість біомаси та метаболізм зелених водоростей, є опромінення лазерами різних спектрів.

Лазерне опромінення збільшує інтенсивність проліферації клітин, активізує певні метаболічні шляхи. Відомо про вплив низькоінтенсивного лазерного опромінення на хлоропласти водоростей, а отже результатом може стати збільшення інтенсивності фотосинтезу та кількості фотосинтезуючих пігментів [1-2]. Такого ефекту можна досягти шляхом опромінення водоростей лазерами з довжинами хвиль у межах 400 – 600 нм [3]. При цьому кількість біомаси та її біохімічні характеристики будуть залежити не тільки від довжини світлового променя, але й від часу опромінення.

Метою роботи було визначення впливу низькоінтенсивного лезерного опромінення різних спектрів на накопичення біомаси зеленої водорості *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko.

Матеріали та методи. Матеріалом для дослідження слугувала музейна культура *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko. Водорості попередньо культивували в умовах накопичувальної культури на живильному середовищі Тамія протягом 21 доби, 22 ± 2 °С та 16 годинному фотоперіоді. Для створення оптимальних умов дослідження лазерного впливу, культуру *A. dimorphus* концентрували за показниками густини культури до значення D≈0,75. Цю стандартизовану культуру розподіляли на окремі аліквоти і піддавали низькоінтенсивному лазерному опроміненню.

Проводилось одноразове опромінення культури мікроводоростей *A. dimorphus*, низькоінтенсивними лазерами з довжиною хвилі 405, 535 та 635 нм тривалістю 5, 10 чи 15 хв. Після опромінення водорості культивували 14 діб, кожної другої доби вимірювали показники оптичної густини культури на спектрофотометрі CaryWin UV 60 (Agilent, США). Показник біомаси розраховували шляхом перерахунку оптичної густини через коефіцієнт відповідності для біомаси *A. dimorphus.*

Результати та обговорення. Було встановлено, що активне нарощування біомаси *A. dimorphus* після одноразового опромінення культури відбувалося до п’ятої доби культивування включно. Після чого інтенсивність ростових процесів у культурі поступово зменшувалася. Відмінності у кількості біомаси *A.*

dimorphus були пов'язані як з тривалістю обробки лазером, так і з довжиною хвилі характерної для кожного лазера (табл. 1).

Таблиця 1. Кількість біомаси *A. dimorphus* за впливу низькоінтенсивного лазерного опромінення на 5 добу культивування (M±m, n=4, мг/мл)

Час обробки, хв	λ, нм			
	Контроль	405	535	635
5	0,93±0,038	1,28±0,058	1,49±0,065	1,62±0,076
10		1,83±0,076	1,44±0,043	1,1±0,028
15		1,12±0,037	1,15±0,036	1,25±0,032

При опроміненні культури зеленої водорості *A. dimorphus* протягом 5 хвилин найбільший стимулюючий ефект проявив лазер з довжиною хвилі 635 нм. При збільшенні терміну опромінення до 10 хвилин найвищу ефективність проявляє лазер з довжиною світлової хвилі 405 нм. Подальше збільшення тривалості опроміненн до 15 хв не призвело до підвищення продуктивності культури. За таких параметрів обробки спостерігалася найменша ростова активність культури *A. dimorphus*. Після 5 доби культивування інтенсивність нарощування біомаси у культурі *A. dimorphus* поступово знижувалася для всіх варіантів обробки і не відрізнялася від контрольних показників.

При порівнянні всіх серій опромінення відзначено, що найбільшим стимулючим ефектом на накопичення біомаси водорості *A. dimorphus* характеризується низькоінтенсивний лазер з довжиною хвилі 405 нм за 10 хв обробки. За цих умов кількість біомаси у культурі *A. dimorphus* була удвічі більшою за контрольні показники.

Отже, враховуючи вище наведені результати було встановлено, що низькоінтенсивне лазерне опромінення позитивно впливає на ростові показники зеленої водорості *Acutodesmus dimorphus*. Такий підхід можна залучати для отримання цінної біомаси кормових водоростей для потреб сільського господарства та аквакультури.

Список використаної літератури:

1. Bajpai P. Current trends and the future of the algae-based biofuels industry. In Third Generation Biofuels. *Springer*: 2019. P. 67-70.
2. Xing W., Zhang R., Shao Q., et al. Effects of laser mutagenesis on microalgae production and lipid accumulation in two economically important fresh Chlorella strains under heterotrophic conditions. *Agronomy*: 2021. Vol. 5. P. 961
3. Ouf S.A., Alsarrani A.Q., Al-Adly A., et al. Evaluation of low-intensity laser radiation on stimulating the cholesterol degrading activity. Part I. Microorganisms isolated from cholesterol-rich materials. *Saudi J. Biol. Sci*: 2012. Vol. 19. P. 185–193

НОВІ ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ В ІМУНОТЕРАПІЇ РАКУ «CAR-T КЛІТИННОЮ ТЕРАПІЄЮ»

Скалоцька Я. І., Конечна Р. Т.
Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»,
jarynaskalotska009@gmail.com

Вступ. На даний момент лікування онкологічних захворювань є актуальним питанням не лише в Україні, а й у цілому світі. У 2019 році саме злоякісні новоутворення стали другою найчастішою причиною смерті після серцево-судинних захворювань в Україні [1]. У 2022 році рак спричинив смерть понад 10 млн. людей по цілому світі, що становить близько 18% від загальної кількості смертей [2]. З огляду на ці статистичні дані можна зробити висновок, що онкологія потребує винайдення нових, інноваційних та вдосконалення вже існуючих методів лікування онкологічних захворювань.

Сучасні дослідження подають велику надію зокрема у лікуванні раку крові. «CAR-T терапія» - це сучасна основа лікування в імунотерапії, що грунтується на використанні власних клітин пацієнта для руйнування лейкемічних клітин. Загалом CAR-T терапія – це поєднання трьох на даний момент прогресивних методик терапії: клітинна терапія, імунотерапія і генна терапія. CAR-T терапію можна вважати клітинною терапією, адже в організм пацієнта вводять не лікарську протиракову хіміотерапію, а «живі» клітини людини. Також дана терапію може розглядатись як імунотерапія, оскільки в даному випадку власні клітини імунної системи пацієнта будуть боротися проти ракових клітин, тобто лікування спрямоване на підвищення природної активності організму у боротьбі з раком, що і є основою імунотерапії. Також CAR-T терапія можна вважати генною терапією, тому що відбувається певна зміна генів у клітинах людини для лікування раку [3].

Метою нашого дослідження було здійснити аналіз літературних джерел щодо сучасних підходів та досягнень імунотерапії раку, застосовуючи «CAR-T терапію».

Матеріали та методи. Огляд літературних даних та аналіз результатів сучасних досліджень в галузі практичної онкології.

Результати та обговорення. CAR (назва походить від англійського Chimeric antigen receptor) - це рекомбінантний гібридний білок. Він здатний поєднувати фрагменти антитіл та має властивість дуже вибірково зв'язуватися з конкретними антигенами та з сигнальними доменами, які здатні активувати Т-клітини. Саме тому для позначення назви клітин, що застовуються для лікування раку, використовують назву CAR-T клітини – CAR-T-cell [4].

Метод CAR-терапії дає можливість перепрограмувати імунні клітини пацієнта поза межами його організму, для створення CAR-T, що вподальшому дозволяє полювати на ракові клітини і ефективно руйнувати онкологічні новоутворення у пацієнта.

«CAR-T терапія» -це багатостадійний метод лікування онкологічних захворювань, що вимагає певної послідовності дій з боку і пацієнтів, і медиків.

Сьогодні виробничі потужності є обмеженими, тому терапію потрібно планувати з пацієнтом заздалегідь та завчасно обговорювати з виробником. Спершу у пацієнта, що перебуває у стаціонарі, за допомогою лейкоферезу з крові виділяють білі кров'яні тіла, зокрема і Т-клітини. Далі ці Т-клітини відправляють на модифікацію та кріоконсервацію. Зазвичай низьких концентрацій лімфоцитів достатньо для отримання достатньої кількості Т-клітин, якщо це необхідно можна провести 2-етапний аферез. Далі продукт аферезу відправляється в спеціалізовану лабораторію виробника Т-клітин CAR. Де клітини, тобто Т-лімфоцити, проходять клітинне перепрограмування, що полягає у генетичній модифікації з метою розпізнавання ракових клітин, також змін зазнають інші клітини, що експресують специфічний антиген, який потрібно зруйнувати. Модифіковані Т-клітини розмножуються, заморожуються та після комплексної перевірки відправляють у клініку, де знаходиться пацієнт. Дана методика є доволі специфічною, але необхідною для успішного проведення CAR-T терапії. Перед вивільненням клітин CAR-T проводиться комплексне тестування, щоб визначити, чи всі вони відповідають технічним характеристикам продукту. До них, серед іншого, відноситься достатня кількість Т-клітин, що експресують CAR та стерильність. Якщо продукт якимось чином вивільняється, то клітини CAR-T повертаються у лабораторію. Кожен етап цього виробництва суворо контролюється „good manufacturing practice" (GMP) та відповідає їхнім вимогам. Загалом виробництво показує хороші результати в клінічній практиці: реальні дані свідчать, що в 94% випадків продукт клітин CAR-T можна виробити вже з першої спроби. У той час, коли виробляється та доставляється кінцевий продукт, пацієнта готують до CAR-T терапії. Підготовка до даної процедури полягає у попередньому проходженні хіміотерапії з метою запобігання можливого відторгнення організмом цих CAR-T-клітин, а також їх збереження та проліферації. Дана підготовка пацієнта допомагає організму прийняти перепрограмовані CAR-T-клітини. Наступним кроком є інфузія модифікованих CAR-T клітин. Їх вводять в організм пацієнта внутрішньовенно, що нагадує переливання крові. Концентрат CAR-T клітин, потрапляючи в кров пацієнта, «запрограмовано» атакує та знищує ракові клітини. Оскільки дана терапію є серйозним втручанням в організм людини, після неї проводиться обов'язковий моніторинг [5].

Зазвичай пацієнти переносять терапію добре. Близько у 30-40% людей, що пройшли дану терапію спостерігаються побічні ефекти. У певного відсотка людей спостерігається легкий тремор невдовзі після процедури. Переважно небажані еффекти є несерйозними, але пацієнти в будь-якому випадку потребують нагляду впродовж певного часу у відділенні інтенсивної терапії, адже там їм можуть забезпечити усі специфічні міри нагляду та лікування. Таким чином після трьох днів у пацієнтів може піднятися температура до 38,7 °C та виникнути потреба у кисні в стані спокою від 2 до 3 л/хв. Через шість днів після інфузії у пацієнтів спостерігається сповільнена мова, погіршення почерку та посилення тремору. Психомоторне уповільнення припиняється через 6 днів. Для швидшого відновлення повсякденної працездатності слід застосовувати фізіотерапевтичні заходи. Однак у деяких дослідженнях повідомляють навіть

про летальні випадки. Також одним з головних побічних ефектів CAR-T-клітинній терапії є синдром вивільнення цитокінів [6].

Цитокіни — це клас невеликих пептидів та білків, що регулюють міжклітинні і міжсистемні взаємодії в організмі та забезпечують узгодженість дії імунної, ендокринної і нервової систем в нормальних умовах.

Однак патофізіологія ще не має повного пояснення даного процесу. Цитокіни є активними в дуже малих концентраціях, а зміни їх концентрації в організмі можуть спричинити серйозні розлади у функціонуванні певних систем організму. Такими наслідками можуть бути: пошкодження та порушення ендотелію, лихоманка, гіпотензія, гіпоксія, порушення свідомості, судоми, рухові розлади та навіть набряки мозку [7,8,9].

Висновки. Отже, CAR-T клітинна терапія є справді високоефективним методом лікування для людей, у яких виявили онкологічне захворювання. На даному етапі розвитку цього методу лікування вже є вдалі результати із досягненням довготривалої ремісії. Поки ця терапія не є ідеальною: існують побічні ефекти та негарантований результат. Зараз фахівці працюють над вдосконаленням методики. Зі збільшенням клінічного досвіду побічні ефекти, опосередковані клітинами CAR-T, стають все краще контрольованими. Також розробляються стратегії збільшення тривалості ремісії після CAR-T-клітинної терапії. Варто зазначити, що оскільки дана терапія ще перебуває у стані розвитку та вдосконалення, для досягнення певних результатів необхідне достатнє фінансування. На сьогоднішній день цей метод лікування раку поєднує в собі найсучасніші методи і через свій стрімкий розвиток подає великі надії в галузі терапії онкологічних захворювань.

Список використаної літератури:

1. Global Burden of Disease — GBD, Institute for Health Metrics and Evaluation — IHME
2. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J. Clin. 2021. 71(3). 209-249.
3. Українська асоціація медичного туризму, Київ, 2021
4. Köhl, U., Abken, H. CAR-T-Zellen als Arzneimittel für neuartige Therapien (Advanced Therapy Medicinal Products). Internist 62, 449–457 (2021)
5. Hansen DK et al (2022) Idecabtagene vicleucel (Ide-cel) chimeric antigen receptor (CAR)T-cell therapyfor relapsed/refractorymultiplemyeloma(RRMM): Real-world experience. J ClinOncol40:8042–8042
6. Giavridis T. et al. CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade. Nat. Med. 2018. 24. 731-738
7. Matthys P et al (1993) Modification of the anti-CD3-induced cytokine release syndrome by anti-interferon-gamma or anti-interleukin-6 antibody treatment: protective effects and biphasic changes in blood cytokine levels. Eur J Immunol 23:2209–2216
8. StratiP,AhmedS(2021)Prognosticimpactofcorticosteroidsonefficacyofchimeric antigen receptorT-cell therapyin large B-cell lymphoma. Blood137:3272–3276
9. Riegler LL, Jones GP, Lee DW (2019) Current approaches in the grading and management of cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy. Ther Clin RiskManag15:323–335

КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ КОМПЛЕКСУ МЕТИЛ-6-(КАРБАМОТІОІЛАМІНО)ГЕКСАНОАТ З ОСНОВНОЮ ПРОТЕАЗОЮ КОРОНАВІРУСУ

Сметюх М.П.[1], Соловйов С.О.[1,2], Василенко В.[3], Сидоренко М.[3], Міцкевічюс С.[3], Трохименко О.П.[1,2]

[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського, msmetiuh@gmail.com

[2] Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика

[3] Університет Вітовта Великого, Каунас, Литва

Вступ. Розуміння біологічних властивостей збудника SARS-CoV-2 має сьогодні важливе значення для розробки ефективних етіотропних препаратів і вакцин проти коронавірусної інфекції COVID-19. Відомо що, одним з ключових факторів, що впливають на вірулентність збудника, є 3С-подібна протеїназа (3CLpro), яка є основною протеазою вірусу та відіграє важливу роль в репродукції вірусу [1]. Попередні дослідження показали, що основна протеаза вірусу розщеплює велику репліказу поліпротеїну pp1a і pp1ab для отримання неструктурних білків для транскрипції та реплікації вірусу [2, 3]. Амінокислотні залишки His41, Met49, Tyr54, Phe140, Leu141, Asn142, Cys145, His163, Met165, Glu166, Leu167, Phe185, Asn187, Arg188 і Gln192 складають активний центр 3CLpro [4]. При чому Cys145 є ключовим залишком в активному центрі 3CLpro, що робить цей залишок привабливою мішенню для ковалентного зв'язування ковалентних інгібіторів [5]. Очевидно, що можливий антагоніст 3CLpro буде високоспецифічним до SARS-CoV-2 і матиме мінімальні побічні ефекти, оскільки 3CLpro не має гомології з іншими протеазами людини [6, 7]. Завдяки суттєвій ролі 3CLpro у транскрипції та реплікації вірусного геному та міцному збереженні залишків зв'язувальної кишені, він вважається ідеальною мішенню для дії ліків на SARS-CoV-2 та інших коронавірусів

Комп'ютерне моделювання молекулярних взаємодій є потужним інструментом для розуміння механізму взаємодії між основною протеазою SARS-CoV-2, або інших коронавірусів, і речовинами з потенційною противірусною дією, такими, наприклад, як метил-6-(карбамотіоіламіно)гексаноат. Цей комплекс потенційно може відігравати важливу роль у процесі інгібіювання репродукції коронавірусів, тому для розробки ефективних стратегій лікування COVID-19 актуальним стає детальне вивчення механізму взаємодії такого комплексу із застосуванням молекулярного моделювання.

Матеріали і методи. Для встановлення можливого механізму противірусної активності метил-6-гексаноату було проведено молекулярний докінг взаємодії «білок-ліганд» з типом моделювання «ключ-замок» у програмі Autodock версії 4.2.6. Для моделювання було обрано Main Protease (Mpro) коронавірусу у форматі .pdb (Protein Data Bank). Білок було отримано методом кріоелектронної мікроскопії. В якості ліганда був обраний метил-6-(карбамотіоіламіно)гексаноат який був взятий у форматі .sdf з Pubchem, і перетворений згодом на 3D структуру у форматі .pdb за допомогою Avogadro® та Discovery Studio 3.5®. Результати були візуалізовані за допомогою програми AutoDock 4.2.6, програми PyMol® та

сайту Protein-Ligand Interaction Profiler®. Grid Box (параметри поля сітки) були встановлені таким чином, щоб захопити всі сайти потенційного зв'язування: поле було встановленоно таким чином, щоб покрити всю структуру білка, а також, виходячи з наукової літератури, було встановлено активний центр ферменту, і проведено докінг із захопленням тільки активного сайту білка, тут варто зазначити, що активний центр входить і у другий box, тобто, він знаходиться на активному боці білка, а перший домен знаходиться з іншого боку від активного центру.

Результати та обговорення. Було проведено молекулярний докінг зв’язку метил-6-аміногексаноату з основною протеазою коронавірусу, в ході якого було встановлено що енергія зв'язку найкращої док-конформації, ккал/моль в активному центрі дорівнює -7,12. При цьому метил-6-аміногексаноат також показує міцні зв’язки в цілому по молекулі: енергія зв'язку у першому та другому доменах Grid Box дорівнювали -6,73 та -6,33 відповідно.

На рисунках 1 та 2 показано положення метил-6-аміногексаноату в активному центрі протеази. Як ми можемо бачити, молекула міцно зв'язується водневими зв'язками з карбоновим киснем, а також утворює міцний зв'язок з Цистеїном145, Аспаргіном142 і Глутаміном166, які по ряду досліджень є одними з основних для функціонування протеази.

Рис. 1. Розміщення метил-6-аміногексаноату у 3CLpro

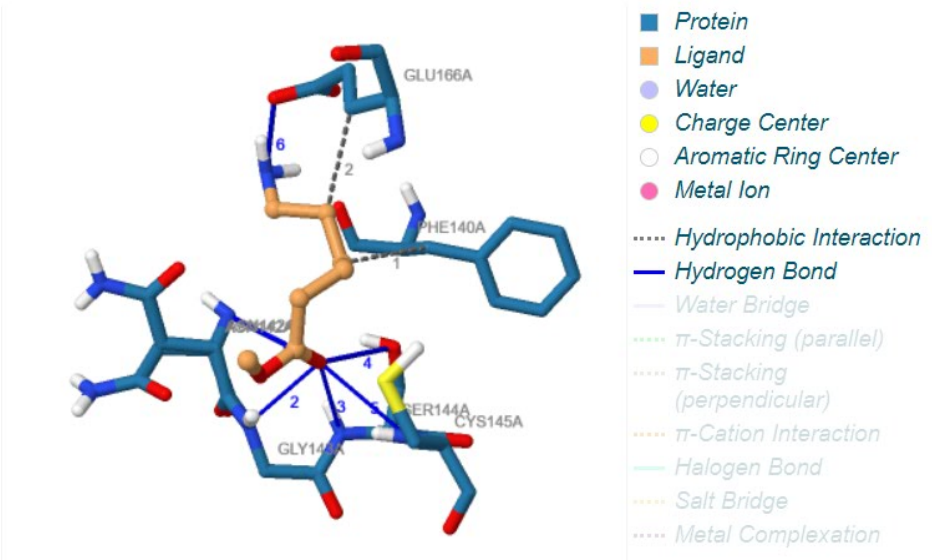


Рис. 2. Основні зв'язки метил-6-аміногексаноату з амінокислотними залишками основної протеази (3CLpro)

Висновки. В результаті комп'ютерного моделювання комплексу метил-6-аміногексаноату з основною протеазою коронавірусу було встановлено, що активний цент Mpro володіє значною афінністю до досліджуваної сполуки. Важливим є те, що метил-6(карбамотіоіламіно)гексаноат утворює водневі зв'язки з важливими, для реплікації вірусу, амінокислотними залишками – CYS145, GLU166, ASN142, що свідчить про інгібування основної протеази коронавірусу SARS-CoV-2 активною структурою метил-6-(карбамотіоіламіно)гексаноат.

Список використаної літератури:

1. Anand, K., Ziebuhr, J., Wadhwani, P., Mesters, J. R., & Hilgenfeld, R. (2003). Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs. Science, 300(5626), 1763-1767.

2. 1. Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., ... & Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *nature*, *579*(7798), 270-273.

3. Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., ... & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature, 579(7798), 265-26, 3 3. Zumla, A., Chan, J. F., Azhar, E. I., Hui, D. S., & Yuen, K. Y. (2016). Coronaviruses—drug discovery and therapeutic options. Nature reviews Drug discovery, 15(5), 327-347

4. Khan, A., Heng, W., Wang, Y., Qiu, J., Wei, X., Peng, S., ... & Wei, D. Q. (2021). In silico and in vitro evaluation of kaempferol as a potential inhibitor of the SARS-CoV-2 main protease (3CLpro). Phytotherapy Research, 35(6), 2841

5. Huang, C., Wei, P., Fan, K., Liu, Y., & Lai, L. (2004). 3C-like proteinase from SARS coronavirus catalyzes substrate hydrolysis by a general base mechanism. Biochemistry, 43(15), 4568-4574

6. Dai, W., Zhang, B., Jiang, X. M., Su, H., Li, J., Zhao, Y., ... & Liu, H. (2020). Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. Science, 368(6497), 1331-1335

7. Chu, C. M., Cheng, V. C. C., Hung, I. F. N., Wong, M. M. L., Chan, K. H., Chan, K. S., ... & Yuen, K. Y. (2004). Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. Thorax, 59(3), 252-256

МУЛЬТИШТАМОВІ ПРОБІОТИКИ У ВЕТЕРИНАРІЇ ЯК АЛЬТЕРНАТИВА СТИМУЛЯТОРАМ РОСТУ

Соколов Д.О., Грегірчак Н.М.
Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. Пробіотики у ветеринарії використовуються завдяки антагоністичній активності щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів для забезпечення відновлення нормальної мікрофлори тварин. Завдяки цьому їх застосовують для профілактики і лікування захворювань різного генезу у молодняка сільськогосподарських тварин та птиці. В якості пробіотичних штамів мікроорганізмів використовуються бактерії різних таксономічних груп, проте серед них перевага надається тим, що досліджуються у різних біотопах тварин з перших днів життя [1].

Широкий спектр кормових добавок, таких як антибіотики, пробіотики, олігосахариди, ферменти та органічні кислоти, використовуються для покращення якості кормів у птахівництві. Такі кормові добавки підвищують ефективність засвоєння поживних речовин у складі корму. Раніше антимікробні стимулятори росту широко використовувались для підтримки та покращення здоров'я птиці у складі кормів, але останнім часом їх використання було заборонено через розвиток резистентних штамів патогенних мікроорганізмів.

Тому в сучасних умовах актуальним є використання пробіотиків, які допомагають при кишкових інфекціях за рахунок конкурентного виключення патогенів, хронічних запальних та алергічних захворювань, а також відіграють важливу роль в імуномодуляції та імуностимуляції. Застосування таких кормових добавок сприятливо впливає на зниження смертності та покращення швидкості розвитку, обмеження поширення патогенів серед сільськогосподарських птахів, що є економічно вигідним для птахівництва [2].

Метою нашої роботи був аналіз сучасних літературних даних щодо напрямків використання пробіотиків у ветеринарії завдяки їх здатності бути безпечною альтернативою кормовим добавкам та стимуляторам росту.

Матеріали та методи. Матеріали даного дослідження являють собою огляд та аналіз літературних даних, що представлені науковими роботами зарубіжних вчених у періодичних спеціалізованих виданнях та стосуються дослідженню ролі мультиштамових пробіотиків у ветеринарії в якості ефективних замінників кормових добавок та стимуляторів росту.

Результати та обговорення. На сьогодні використання пробіотиків в якості добавки до кормів для стимуляції росту та для боротьби з патогенною мікрофлорою актуально в усіх галузях тваринництва та птахівництва. Зважаючи на те, що деякі антибіотики, які знайшли застосування у ветеринарії, також застосовуються в гуманній медицині, це в подальшому впливає на виникнення антибіотикорезистентності у людини як споживача. Потреба дослідження мультиштамових пробіотичних препаратів в якості корисної альтернативи виникла, насамперед, через надмірне використання антибіотиків не тільки з метою лікування хвороб, а і в якості стимуляторів росту тварин при додаванні їх

до кормів, що є ключовим фактором у розвитку стійкості патогенних мікроорганізмів.

В сучасних умовах активно досліджуються як одноштамові, так і мультиштамові пробіотики. Проте, істотну перевагу мають саме мультиштамові пробіотики, що є набором різних пробіотичних штамів мікроорганізмів. Це відбувається тому, що з використанням більшої кількості штамів розширюється і спектр ефективності їх дії та позитивних синергетичних ефектів на організм тварин [3].

Перспективним напрямком є дослідження впливу та особливостей застосування мультиштамових пробіотиків на основі пробіотичних штамів родів *Bacillus, Clostridium, Lactobacillus, Enterococcus, Pediococcus*.

Досліджено використання мультиштамового пробіотика зі складом *Bacillus coagulance* (концентрація 1×10^{12} КУО/г), *B. lichenformis* (концентрація 5×10^{11} КУО/г), *B. subtilis* (концентрація 1×10^{12} КУО/г) та *Clostridium butyricum* (концентрація 1×10^{11} КУО/г) для досліджень його впливу на поросят-від'ємів. Встановлено покращення показників зростання тварин, засвоюваності їжі та балансу кишкової мікрофлори, що супроводжувалось зменшенням виділення шкідливих газів з фекаліями [4]. Також перспективним є використання у складі мультиштамового пробіотика для бройлерів *Lactobacillus acidophilus*, *B. subtilis* DSM 17299 та *C. butyricum*, що зумовило підвищення показників росту птиці, більшу засвоюваність амінокислот та зменшення концентрації кишкової палички у сліпій кишці птахів [5].

Крім того доведено, користь у використанні в раціоні бройлерів для покращення імунітету мультиштамового пробіотика, що містить *Saccharomyces cerevisiae*, *Enterococcus faecium*, *L. acidophilus* та *B. subtilis* [6]. Зокрема, показано важливу роль різних штамів *B. subtilis* у покращенні імунної активності кишечника та позитивному впливі на цілісність кишкового бар'єру курчат-бройлерів [7].

Пробіотики знайшли застосування і в аквакультурі. Причиною цього є поширення спалахів інфекційних захворювань, що створюють перешкоди для вирощування риби, зумовлюють економічні втрати для фермерів та загрожують розвитку галузі аквакультури. Використання пробіотиків знизило до мінімуму використання антибіотиків та інших хіміотерапевтичних засобів, які негативно впливають на аквакультуру та навколишнє середовище. Так, використання мультиштамового пробіотика з таким складом, як *B. subtilis*, *E. faecium*, *L. reuteri*, *Pediococcus acidilactici* на тиляпії (*Oreochromis niloticus*) сприяло покращенню росту та підвищенню імунологічного статусу кишечника даної промислово цінної групи риб [8].

Висновки. Таким чином, завдяки своїм унікальним властивостям, серед яких попередження виникнення антибіотикорезистентності, стимуляція росту та розвитку, підтримка та покращення здоров'я тварин та птахів, мультиштамові пробіотики є перспективними агентами у розвитку ветеринарії.

Список використаної літератури:

1. Глущенко А., Андрійчук А., Рубленко І., Зоценко В., Островський Д., Таранухa С. Аналіз принципів застосування про-та пребіотиків у тваринництві. Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції здобувачів вищої освіти «Молодь – аграрній науці і виробництву». 2022, 32.

2. Ahmadzadeh A., Nobakht A., Mehmannavaz Y. Supplementary prebiotics, probiotics, and thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil for broilers: performance, intestinal morphology, and fecal nutrient composition. Probiotics Antimicrob. Proteins. 2022: 1-9. doi: 10.1007/s12602-022-09927-3.

3. Ouwehand A.C., Invernici M.M., Furlaneto F.A., Messora M.R. Effectiveness of multi-strain versus single-strain probiotics: current status and recommendations for the future. J. Clin. Gastroenterol. 2018, 52: 35-40. doi: 10.1097/MCG.0000000000001052.

4. Lan R.X., Lee S.I., Kim I.H. Effects of multistrain probiotics on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, faecal microbial shedding, faecal score and noxious gas emission in weaning pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2016, 100(6): 1130-1138. doi: 10.1111/jpn.12501.

5. Zhang Z.F., Kim I.H. Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers. Poult. Sci. 2014, 93(2): 364-370. doi: 10.3382/ps.2013-03314.

6. Ahmed S.T., Mun H.S., Islam M.M., Kim S.S., Hwang J.A., Kim Y.J., Yang C.J. Effects of Citrus junos by-products fermented with multistrain probiotics on growth performance, immunity, caecal microbiology and meat oxidative stability in broilers. Br. Poult. Sci. 2014, 55(4): 540-547. doi: 10.1080/00071668.2014.938021.

7. Gadde U., Oh S.T., Lee Y.S., Davis E., Zimmerman N., Rehberger T., Lillehoj H.S. The effects of direct-fed microbial supplementation, as an alternative to antibiotics, on growth performance, intestinal immune status, and epithelial barrier gene expression in broiler chickens. Probiotics Antimicrob. Proteins. 2017, 9(4): 397-405. doi: 10.1007/s12602-017-9275-9.

8. Standen B.T., Peggs D.L., Rawling M.D., Foey A., Davies S.J., Santos G.A., Merrifield D.L. Dietary administration of a commercial mixed-species probiotic improves growth performance and modulates the intestinal immunity of tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Shellfish Immunol. 2016, 49: 427-435. doi: 10.1016/j.fsi.2015.11.037.

МІКОТОКСИНИ ТА ЇХ ПРАКТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ

Тарнавська А.О., Дзигун Л.П.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, tarnavskanna@gmail.com

Вступ. Мікотоксини – це токсини отруйних грибів, які спричиняють біохімічні отруєння людей та тварин [1]. Вони вивчаються фітотоксикологією, мікологією, фармакологією, біохімією та іншими спорідненими науками.

Актуальність дослідження зумовлена тим фактом, що мікотоксини, які виробляються отруйними грибами, можуть мати і корисне застосування, особливо в області медицини та науки. Мікотоксини використовуються в наукових дослідженнях, де застосовуються для вивчення різних аспектів біології, фізіології та інших наук. Метою є описати основні токсини отруйних грибів і запропонувати їхнє практичне застосування.

Матеріали та методи. Огляд літератури [2, 3] дозволив виділити основні мікотоксини, які і становлять матеріал дослідження. Токсини отруйних грибів, які розглядаються нижче, отримані на основі класифікації Д.Р. Бенджаміна (1995), яка включає: цитолітичні токсини (циклопептиди, гідразини, ореланіни), токсини, що впливають на ВНС (ізооксазоли, мускарин, коприн), токсини, що впливають на ЦНС (псилоцибіни), токсини-гастроіританти (алкалоїди, терпеноїди, глікозиди) [1].

Результати та обговорення. Існує безліч різних мікотоксинів, які продукують гриби. Найбільш поширеними токсинами отруйних грибів є: аманітоксин, мускарин, мусцимол, копринцин, ореланін.

Аманітоксин (аматоксин, аманітин) є одним із найбільш токсичних мікотоксинів, що виробляються отруйними грибами роду *Amanita*, особливо білим грибом (*Amanita phalloides).* Він належить до групи циклічних пептидних токсинів, які впливають на гепатоцити. При вживанні отруйних грибів аманітоксин потрапляє в кров і швидко розноситься по організму, потрапляючи в клітини печінки, де викликає їх загибель і розпад. У результаті у людини розвивається гострий гепатит, який може призвести до смерті протягом декількох днів [4].

Незважаючи на потенційну небезпеку для людини, аманітоксини знаходять різноманітне застосування в медицині та науці. Цей мікотоксин діє як інгібітор РНК-полімерази, який пригнічує клітинну реплікацію. Така здатність токсина робить аманітоксин корисним інструментом для досліджень в молекулярній біології. Широке застосування аманітоксинів і при дослідженні ракових клітин шляхом приєднання аманітоксину до маркера, який потім додається до клітини. Коли токсин зв’язується з рибосомами клітини, він зупиняє процес синтезу білка і відображається на зображенні під мікроскопом. Аманітоксин використовується для виділення та аналізу різних білків, включаючи білки відповідальні за клітинний цикл та регуляцію генів.

Хоча аманітоксин є отруйним, він може застосовуватись як лікарський засіб у дуже низьких дозах для лікування деяких захворювань. Наприклад, його можна використовувати для лікування хвороби Вільсона, яка спричиняє надлишок міді в організмі, і для зменшення рецидивів раку печінки.

Аманітоксини є важливими елементами природних екосистем, допомагаючи підтримувати біорізноманіття та контролювати популяції комах та інших організмів, які їдять ці гриби.

Ореланін – це нейротоксичний амінокислотний алкалоїд, який міститься в деяких видів грибів роду *Cortinarius*. Ореланіни також належать до групи цитолітичних токсинів.

Ореланін не має практичного застосування в медицині або інших галузях через його нейротоксичну природу. Цей алкалоїд може викликати серйозні неврологічні порушення, такі як м'язова слабкість, нудота та блювання. Незважаючи на те, що ореланові гриби (*Cortinarius*) містять ореланін, деякі види цих грибів мають природні антибіотичні властивості, що можуть бути корисними в медицині. Наприклад, *Cortinarius rubellus* містить антибіотик ситоміцин, який виявився ефективним проти бактерій, що стійкі до інших антибіотиків.

Однак, використання *Cortinarius rubellus* як джерела ситоміцину не є практичним, оскільки цей гриб містить і ореланін, який є небезпечним для здоров'я людини. Тому, для отримання ситоміцину використовують інші джерела, які не містять ореланін [5].

Мускарин – це мікотоксин, що виробляється деякими отруйними грибами, зокрема грибом мухомором (*Amanita muscaria*) та грибом-блідницею (*Clitocybe dealbata*). Цей токсин вражає нервову систему людини і тварин, викликаючи різні симптоми отруєння. Мускарин відноситься до групи алкалоїдів і діє як нейротоксин, що впливає на роботу нервової системи, мозку та м'язів [6].

Мускарин використовується для лікування глаукоми, захворювання очей, яке викликає підвищення тиску всередині очного яблука. Застосовується у вигляді очних крапель для зниження внутрішнього тиску в оці та полегшення симптомів глаукоми. Крім цього, мускарин використовується для дослідження мозку та нейрональної активності. Він приводить до збільшення активності мозкових нейронів і допомагає в дослідженні різних фізіологічних процесів, пов'язаних з мозком. Цей мікотоксин корисний у біохімічних дослідженнях функції та взаємодії нейромедіаторів, які передають сигнали між нервовими клітинами.

Мускарини використовують в агрономії для підвищення врожайності деяких рослин, адже він збільшує здатність рослин поглинати такі поживні речовини, як азот, і може застосовуватись як регулятор росту рослин.

Мусцимол – це природний алкалоїд, який міститься в деяких видів мухоморів, наприклад, у виді *Amanita muscaria*. Цей алкалоїд відноситься до класу галюциногенних речовин, тому має психоактивну дію на людину.

Основне використання мусцимола пов'язане з його властивостями змінювати свідомість і викликати галюцинації. Тому мусцимол знайшов застосування в наукових дослідженнях впливу галюциногенів на мозок і психіку людини [7]. Деякі культури, наприклад північноамериканські індіанці, використовують мухомор в релігійних цілях, де мусцимол викликає стан ейфорії та сприяє здатності до медитації та духовного розвитку.

Коприницин – це алкалоїд, який міститься в деяких видів грибів роду *Coprinus*, наприклад в *Coprinopsis atramentaria*. Історично, копринуси

використовувалися як джерело їжі та лікувальних засобів в деяких культурах, але з часом вони стали менш популярними в кулінарії та медицині через їхні негативні ефекти.

У даний час коприницин не має практичного застосування в медицині або інших галузях [8]. Оскільки коприницин може викликати неприємні симптоми, такі як діарея, його застосування у медицині не рекомендується. З іншого боку, *Coprinus comatus* (копринус їстівний) може мати певний потенціал в кулінарії, оскільки він має приємний смак та текстуру. Цей гриб часто використовується в європейській та японській кухнях для приготування різних страв.

У даному дослідженні не розглянутий клас гастроіритантів, яким ми присвятимо наші наступні розвідки.

Висновки. Отже, мікотоксини грибів – це отруйні речовини, які виділяються деякими видами грибів. Вони можуть бути небезпечними для людей, тварин і рослин, які знаходяться в їх оточенні. Отруйні гриби можуть спричинити отруєння, що може бути легким або смертельним.

Проаналізовані мікотоксини грибів аманітоксин, мускарин та мусцимол мають широке практичні застосування. Вони використовуються в медицині для лікування хвороб, в біохімії, агрономії як регулятори росту рослин та як інсектициди або як засоби боротьби з бактеріями і грибками, які шкодять рослинам, в науці для дослідження ракових клітин та роботи мозку. Коприницин та ореланін, зважаючи на галюциногенні та антибіотичні властивості, які роблять їх небезпечними для здоров'я людини, не мають такого використання.

Список використаної літератури:

1. Леонтьев Д.В., Сербин А.Г., Росихин В.В., Буряк В.В., Панасенко А.И., Юрченко И.А., Кочергина А.В., Парченко В.В., Каплаушенко А.Г. Медицинская микология с основами микотоксикологии. Учебник для высших учебных заведений / под ред. Д.В.Леонтьева, А.Г.Сербина. – Харьков: 2010. – 142 с.

2. R. S. Shukla, S. K. Shukla, and R. K. Dubey, "Phytotoxic Metabolites of Fungi: A Review", Journal of Applied Sciences Research, vol. 6, no. 12, pp. 2273–2283, 2010.

3. S. K. Upadhyay and P. K. Verma, "Mycotoxins and Phytotoxins: A Review of Their Ecological Importance", Frontiers in Microbiology, vol. 7, p. 1055, 2016.

4. L. P. Tolstych, L. A. Gorovoj, V. A. Tolstych, and L. S. Zav'yalov, "Amanita Toxins: Biochemistry, Pharmacology, and Toxicology," Toxins, vol. 10, no. 11, p. 454, 2018.

5. M. Raithel, H. Drechsler, and T. H. Maiwald, "Cortinarius orellanus (fool's webcap) poisoning: a systematic review," Critical Care, vol. 14, no. 2, p. R51, 2010.

6. D. M. Benjamin and K. M. Keppler, "Mushroom Poisoning by Inocybe and Clitocybe Species," Journal of Emergency Nursing, vol. 36, no. 5, pp. 478–481, 2010.

7. G. A. Cordell, "Psychoactive natural products: overview of recent developments," Annals of the New York Academy of Sciences, vol. 1248, no. 1, pp. 1–25, 2012.

8. M. S. Linder and R. G. Lillard, "Coprinus Toxins: A Review," Toxicon, vol. 15, no. 3, pp. 257–268, 1977.

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯМ НАНОЗИМІВ В КОЛОРИМЕТРИЧНИХ ІМУНОАНАЛІЗАХ

Тодоров Я. С, Отрода М. С.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, masha.otroda@gmail.com

Вступ. Імуноферментні аналізи та імуносенсори здатні забезпечити високу чутливість для зондування мішені завдяки каталітично посиленим показанням, створеним їхніми ферментними мітками (пероксидаза хрону, лужна фосфатаза тощо). Однак використання цих природних ферментів приносить деякі небажані ефекти традиційним методам, включаючи високу вартість і короткий термін зберігання. З розвитком нанотехнологій і біотехнологій останніми роками почали використовувати новий тип наноматеріалів із властивими ферментоподібними характеристиками, як «нанозими». Нанозими не тільки виявляють високу каталітичну активність із можливістю налаштування, але й усувають дефекти природних ферментів, демонструючи переваги легкого приготування, низької вартості та високої стабільності [1].

Мета даної роботи – проаналізувати переваги використання нанозимів в колориметричних імуноаналізах та охарактеризувати останні дослідження в цьому напрямку.

Матеріали та методи. Методи літературного пошуку: пошук в базах даних (таких як PubMed, Scopus або Web of Science), пошук за допомогою Google Scholar, аналіз бібліографій.

Результати та обговорення. Серед усіх імуносенсорів найбільш популярним є колориметричні імунологічні аналізи. Як правило, такі аналізи на основі нанозимів працюють на основі каталізу міток нанозимів щодо деяких хромогенних субстратів, що дає зміни кольору, які можуть вказувати на рівні мішеней. Зазвичай для зчитування сигналу аналізів на основі розчину достатньо простого пристрою для зчитування – мікропланшетів. Значні зміни кольору можна розрізнити навіть неозброєним оком, що забезпечує можливість прямого візуального аналізу. Крім того, легко використовувати звичайні смартфони для запису та аналізу колориметричного відгуку, що робить його дуже привабливим для тестування на місці [2, 3].

Завдяки зазначеним вище характеристикам було розроблено багато колориметричних імуносенсорів на основі наноферментів для визначення маркерів раку, патогенів, функціональних білків, залишків пестицидів, токсинів, антибіотиків та інші біомаркери.

Було докладено значних зусиль для розробки імуноаналізів з використанням нанозимів. Для цього використовувалися різні формати. Наприклад, було розроблено стандартний сендвіч-імунологічний аналіз, використовуючи наноферменти оксидази, а також пероксидази. Імітатор пероксидази з високою активністю був отриманий шляхом захоплення PtNP разом із MNP оксиду заліза

в пористому вуглеці. Після цього нанозими використовували як сигнальний компонент для мічення антитіл. Завдяки цьому ген HER2 було виявлено за три хвилини за допомогою сендвіч-аналізу.

Крім того, ротавірус, який викликає діарею, був ефективно виявлений за допомогою розробленого імунологічного аналізу. Також був розроблений сендвіч-аналіз для виявлення гамма-семінопротеїну, який також називають простатоспецифічним антигеном.

Для запобігання поширенню надзвичайно інфекційних захворювань, наприклад вірусу Ебола, важлива швидка діагностика, зокрема локальне виявлення за допомогою портативних пристроїв. Нещодавно, для виявлення вірусу Ебола, була розроблена наноферментна смужка, яка показала в 100 разів більшу чутливість на відміну від смужки на основі наночастинок золота. Подібна смужка також була розроблена для виявлення хоріонічного гонадотропіну. Використовуючи портативний пристрій або смартфон, можна легко виміряти концентрацію хоріонічного гонадотропіну і передати її пацієнтам/лікарям або клінічному персоналу [4, 5].

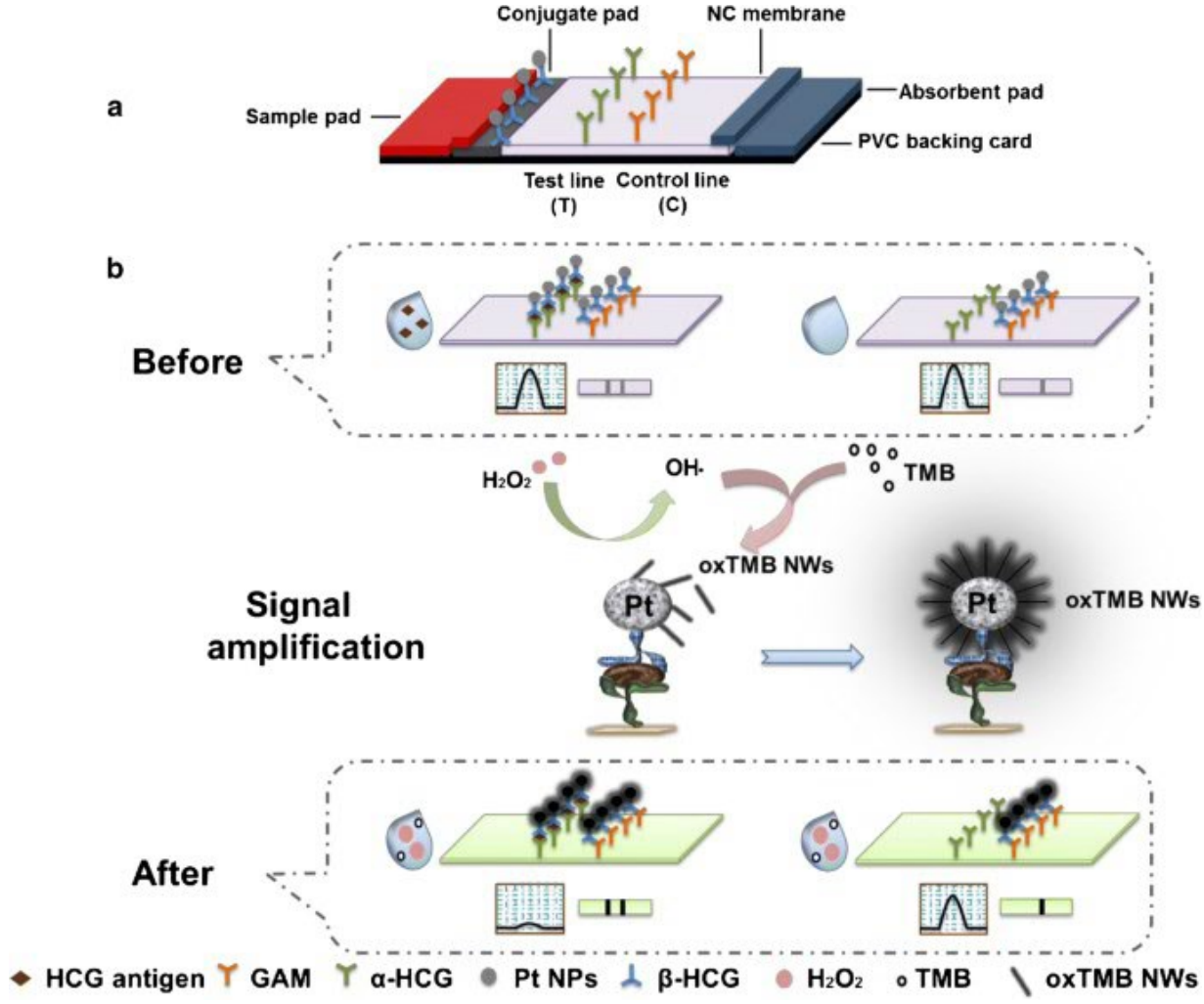


Рис. 1. Принцип роботи стрічкового імуносенсора для виявлення хоріонічного гонадотропіну: a – збірка ICTS, b – схематична ілюстрація покращеного імуноаналізу на основі нанозиму Pt NP [5].

Висновки. Поява нанозимів відкриває нову перспективу для вивчення біологічних ефектів наноматеріалів. Нанозими володіють усіма унікальними фізико-хімічними та оптоелектронними властивостями наноматеріалів, включаючи розмір, форму та склад. Нещодавно нанозими стали потужною альтернативою природним ферментам завдяки їхнім чудовим каталітичним властивостям і стійкості до суворих умов навколишнього середовища. Вони широко використовуються в широкому діапазоні застосувань, таких як біологія, медицина, сільське господарство, екологічна біотехнологія та інші галузі. Одне з головних застосувань – для колориметричних імуноаналізів, де вони дають більш помітну зміну кольору порівняно з широко використовуваним колориметричним субстратом ТМВ. Незважаючи на чудові переваги нанозимів, ці наноматеріали все ще страждають від деяких обмежень, таких як обмежені каталітичні типи, погана селективність субстрату та здатність до диспергування, легке осадження після модифікації поверхні та потенційна нанотоксичність.

Список використаної літератури:

1. Recent Advances in the Immunoassays Based on Nanozymes / L. Zhou et al. Biosensors. 2022. Vol. 12, no. 12. P. 1119. URL: https://doi.org/10.3390/bios12121119.

2. Review–Nanozyme-Based Immunosensors and Immunoassays: Recent Developments and Future Trends / X. Niu та ін. Journal of The Electrochemical Society. 2019. Т. 167, № 3. С. 037508. URL: https://doi.org/10.1149/2.0082003jes.

3. Recent developments in colorimetric immunoassays using nanozymes and plasmonic nanoparticles / A. Mohamad et al. Critical Reviews in Biotechnology. 2018. Vol. 39, no. 1. P. 50–66. URL: https://doi.org/10.1080/07388551.2018.1496063.

4. Nanozymes for medical biotechnology and its potential applications in biosensing and nanotherapeutics / S. Munir та ін. Biotechnology Letters. 2020. Т. 42, № 3. С. 357–373. URL: https://doi.org/10.1007/s10529-020-02795-3.

5. Black oxidized 3,3′,5,5′-tetramethylbenzidine nanowires (oxTMB NWs) for enhancing Pt nanoparticle-based strip immunosensing / S. Lin et al. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2019. Vol. 411, no. 18. P. 4063–4071. URL: https://doi.org/10.1007/s00216-019-01745-x.

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТАГОНІСТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ДРІЖДЖІВ, ВИДІЛЕНИХ З КЕФІРНОГО ГРИБКА

Хабленко А.Д., Дуган О.М.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, khablenkoad@gmail.com

Вступ. Антагоністична активність різних штамів пробіотиків по відношенню до патогенних і умовно-патогенних представників мікробіоти кишечника є досить важливою характеристикою і притаманна для багатьох перспективних терапевтично цінних штамів. Найчастіше для дослідження антагонізму використовуються різні патогенні мікроорганізми, наприклад, такі як: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Candida albicans*, тощо. Однак, також важливою характеристикою для потенційного пробіотика є здатність до росту разом з притаманними для мікробіоти ШКТ людини мікроорганізмами. Оскільки асортимент кисломолочних продуктів постійно збільшується і оновлюється, то пошук і виділення нових пробіотичних штамів є досить актуальним напрямом біотехнологічних і фармацевтичних досліджень [1].

Одним із джерел отримання різних пробіотиків є кисломолочні продукти та природні симбіози, наприклад, кефірний грибок [2], який на сьогодні вважається комплексним пробіотиком [3], що містить різні групи мікроорганізмів: молочнокислі бактерії (МКБ), оцтовокислі бактерії (ОКБ) та дріжджі [4]. Саме дріжджі кефірного грибка привертають найбільшу увагу через наявність у багатьох видів пробіотичних властивостей та здатність до утворення симбіозу з притаманними для кефірного грибка МКБ.

Метою роботи було дослідження антагоністичної активності дріжджів, виділених з кефірного грибка по відношенню до обраних штамів МКБ, притаманних для мікробіоти ШКТ людини і багатьох кисломолочних продуктів.

Матеріали і методи. У роботі було використано два штами дріжджів, виділених з кефірного грибка з Колекції культур відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААН України БКСS (*Saccharomyces cerevisiae*) та polska (*Candida albicans*). Антагоністичну активність дріжджів визначали методом лунок [5] на твердому поживному середовищі МРС, приготованому згідно з [6]. У роботі було використано наступні штами МКБ: *Lcb. rhamnosus* 35-5 №4 1, *Lcb. rhamnosus* 35-5 №11 4, *Lpb. plantarum* №1, *Lcb. casei* 51 №4, *Lb. acidophilus* 15 Нар, *Lb. acidophilus* $27_{2\text{-}3}$, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 3500-6, *Str thermophilus* 74. Посіви вирощували 48 годин за температури 37°С. Оцінка росту проводилась за прийнятою 5-бальною шкалою, де 5 – активний ріст та наявність синергізму, 0 – відсутність рості і антагонізм.

Результати і обговорення. За отриманими нами результатами та прийнятою баловою оцінкою було побудовано діаграму антагоністичної дії дріжджів на МКБ, яка продемонстрована на рисунку 1. Виявлено відсутність антагонізму продуктів життєдіяльності дріжджів по відношенню до усіх обраних штамів МКБ. Окрім цього, спостерігався синергізм та помітне збільшення

інтенсивності росту двох штамів *Lb. acidophilus*, *Lcb. casei*, *Lpb. plantarum* №1 та штаму *Lcb. rhamnosus* 35-5 №4 1 біля лунок зі штамом дріжджів БКCS.

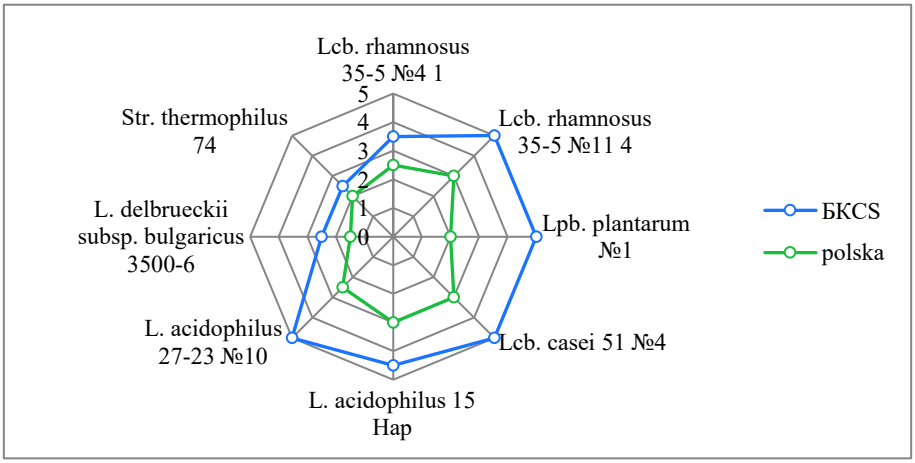


Рис. 1. Оцінка співкультивування досліджуваних дріжджів і МКБ на середовищі МРС

Отримані результати свідчать не тільки про відсутність антагонізму дріжджами штаму БКCS МКБ, але і наявність синергізму, особливо для наведених вище штамів. Досить низький ріст культури БКCS зафіксовано для штамів *Str. thermophilus* 74 та *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 3500-6. Штам polska виявив інші результати. Спостерігався менш інтенсивний ріст всіх досліджуваних культур навколо лунок з культурою polska, що свідчить про можливе незначне інгібування усіх культур МКБ.

Висновки. Отже, за результатами дослідження, було визначено вплив дріжджів, виділених з кефірного грибка, на різні штами МКБ. Показано позитивний ефект штаму БКCS на ряд МКБ, відмічається синергічна дія на МКБ виду *Lb. acidophilus*, *Lcb. casei*, *Lpb. plantarum*. Отримані результати висвітлюють потенційні мікробні взаємодії між мікроорганізмами кефірного грибка та вказують на здатність до співіснування окремих видів дріжджів і МКБ, що може бути використано в подальшому при розробці пробіотиків на основі дріжджів та натуральної закваски для кефіру.

Список використаної літератури:

1. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria / G. V. de Melo Pereira та ін. Biotechnology Advances. 2018. Т. 36, № 8. С. 2060–2076.

2. New perspectives in fermented dairy products and their health relevance / M. García-Burgos та ін. *Journal of Functional Foods*. 2020. Т. 72. С. 104059.

3. Farnworth E. R. Kefir – a complex probiotic. *Food Science Technology Bulletin: Functional Foods*. 2005. Т. 2, № 1. С. 1–17.

4. Nejati F., Junne S., Neubauer P. A Big World in Small Grain: A Review of Natural Milk Kefir Starters. *Microorganisms*. 2020. Т. 8, № 2. С. 192.

5. Егоров Н. Микробы антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. Москва : Высшая шк., 1965. 212 с.

6. Інструкція щодо організації виробничого мікробіологічного контролю на підприємствах молочної промисловості. Київ : ННЦ «ІАЕ», 2014. 372 с.

ВИВЧЕННЯ РОСТУ МІКРООРГАНІЗМІВ ПРИРОДНОГО КЕФІРУ НА РІЗНИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Хабленко А.Д.[1], Яловенко О.І.[1], Потемська О.І[2].
[1] КПІ ім. Ігоря Сікорського, khablenkoad@gmail.com
[2]Інститут продовольчих ресурсів НААН, вул. Є. Сверстюка, Київ, 02660

Вступ. Симбіотичні відносини між різними видами організмів зустрічаються у представників всіх царств живих істот. Однією з найпоширеніших причин утворення тісних харчових зв'язків між ними є надходження і утилізація різних поживних речовин, що надходять до оточуючого середовища. Вивчення різних симбіотичних відносин між організмами є предметом декількох біологічних дисциплін, серед яких є біотехнологія, яка спеціалізується на отриманні корисних для людини сполук на основі симбіозу між грибами і бактеріями, мікроводоростями і ціанобактеріями, тощо [1]. Найбільш розповсюдженими симбіотичними відносинами характеризуються мікроорганізми різних родів і видів, наприклад, досить багатий на розмаїття мікробіом людини, який активно досліджується останні десятиліття. Іншими мікробними симбіозами, які активно використовуються у харчовій промисловості є чайний гриб, кефірний грибок або кефірні зерна [2].

Основною проблемою при дослідженні мікробних симбіозів, особливо у випадку кефірних зерен, є складність відтворення і створення штучного консорціуму, що обумовлено особливостями будови і видовою різноманітністю мікробіоти симбіозу [3]. Причиною проведення численних досліджень, які присвячені створенню штучного кефірного грибка, є особливі пробіотичні властивості готового природного кефіру. На сьогодні відсутні позитивні результати, що стосуються отримання штучного кефірного грибка, а більшість робіт стосується оптимізації умов культивування кефірних зерен [4]. При проведенні таких досліджень часто використовують різні підходи, зокрема: використання різних середовищ [5], режимів культивування [5, 6] та підбір концентрацій кефірного грибка [5, 7].

Метою роботи є мікробіологічна оцінка готового природного кефіру, отриманого при додаванні різних концентрацій закваски, та ріст мікроорганізмів кефірного грибка на різних твердих поживних середовищах.

Матеріали і методи. Основним об'єктом дослідження був молочний кефірний грибок з Колекції культур відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААН України. Кефірний грибок відновлювали за стандартною методикою, а саме промивали стерильним фізіологічним розчином і молоком, після чого культивували у пастеризованому молоці за температури 25°С протягом 24 годин. З метою оцінки впливу концентрацій закваски на кефір було підібрано наступні розведення кефірного грибка: у 10, у 20 та у 25 разів. Для отримання кефіру відновлені кефірні зерна культивували у пастеризованому молоці за аналогічних умов. Оцінку мікробіологічного профілю проводили шляхом відбору зразків при внесенні закваски у молоко (0 годин) та після культивування (24 години), після чого зроблено посіви серійних розведень на наступні поживні середовища: Сабуро агар (СА), гідролізатний агар (ГА), МРС,

які приготовані згідно з [8]. Обрані середовища є сприятливими для росту більшості притаманних для кефірного грибка мікроорганізмів: дріжджів та молочнокислих бактерій (МКБ). Контрольними значеннями обрано розведення у 10 разів, яке найчастіше використовується для отримання природного кефіру. Приріст (GR) розраховували за формулою, наведеною нижче:

$$GR = \frac{lg(N_{24\ год}) - lg(N_{0\ год})}{lg(N_{0\ год})} \cdot 100\%$$

де, $lg(N_{0\ год})$ – кількість КУО/см^3 у логарифмічних одиницях при внесенні закваски;

$lg(N_{24\ год})$ – кількість КУО/см^3 у логарифмічних одиницях після 24 годин культивування.

Достовірними вважали результати, якщо значення $\alpha > 0,95$. На побудованих графіках зазначені статистично значущі результати для $p < 0,05$ – *; $p < 0,01$ – **; $p < 0,001$ – ***.

Результати і обговорення. Отримані нами дані свідчать про вплив різних концентрацій закваски на кількість мікроорганізмів у кефірі, що наведено на рис. 1.

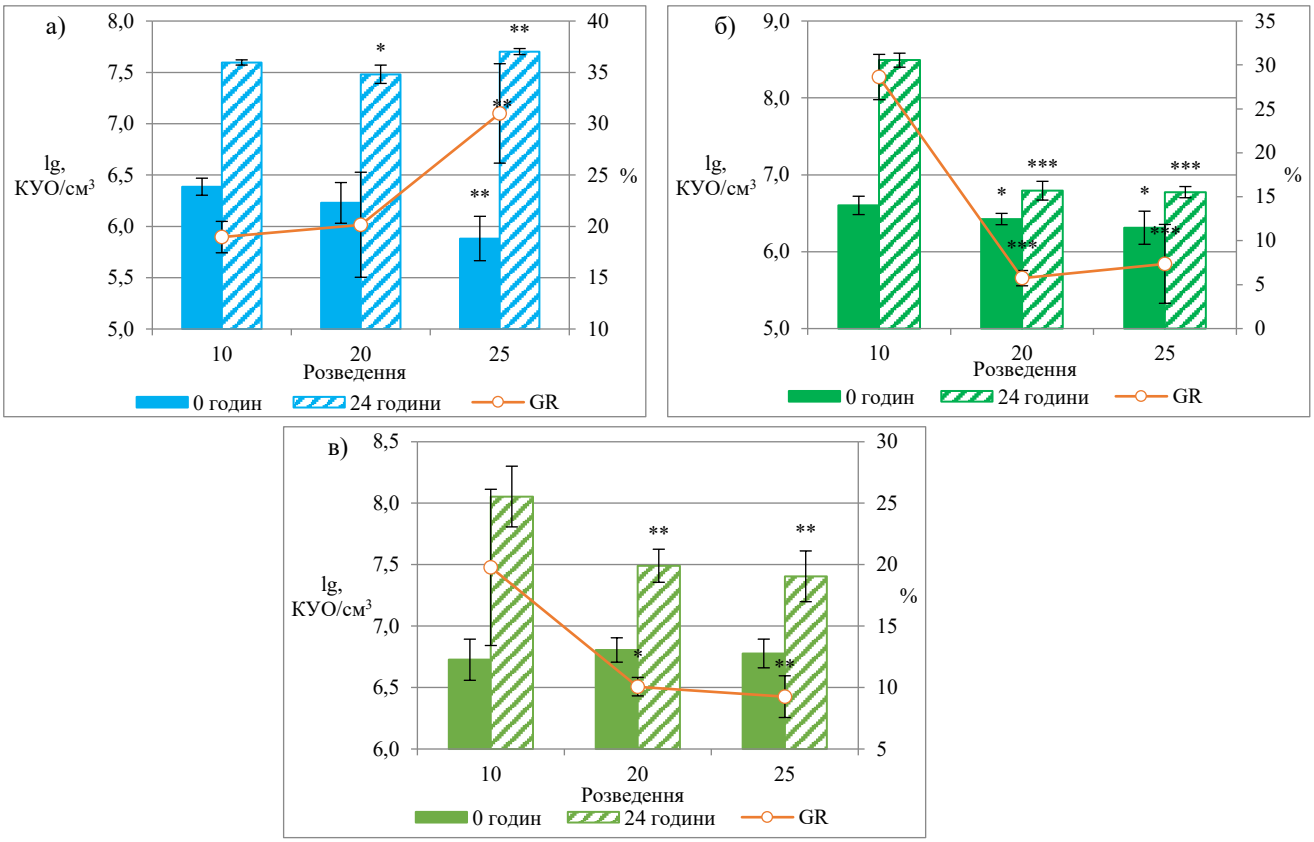


Рис. 1. Результати вирощування зразків кефіру та приріст мікроорганізмів кефірного грибка на різних середовищах: а) СА; б) МРС; в) ГА

Як видно з наведених графіків, на середовищі СА спостерігається найбільший приріст кількості клітин для варіанту зразка, розведення у 25 разів (на 31,0±4,8%), однак показник логарифму КУО/см^3 є приблизно однаковим для усіх розведень, хоча і наявна статистична значущість порівняно з контролем (розведення у 10 разів). Після 24-годинного вирощування найбільше значення

логарифму КУО/см^3 виявлено на середовищі СА і становило 7,7±0,1. Такі результати можуть бути обумовленими наявністю великої кількості глюкози у середовищі та сприятливими умовами для росту дріжджів кефірного грибка.

Порівняно з СА, на середовищі МРС і ГА спостерігався більший приріст у одиницях КУО/см^3. Так, ріст склав до 8,5±0,1 та 8,1±0,2 КУО/см^3 для розведення у 10 разів на середовищі МРС і ГА відповідно. Для розведень 20 і 25 максимальне значення для МРС складало до 6,8±0,1 КУО/см^3. У той час як на ГА ріст склав до 7,5±0,2 КУО/см^3 для розведень 20 і 25. Такий бурхливий ріст може бути пов'язаним з високою поживністю обраних середовищ та їх оптимальним складом для МКБ, які представляють собою найбільшу частку мікроорганізмів кефірного грибка (до 90%) [9]. Окрім цього, спостерігається приріст мікроорганізмів до 28,6±1,5% та 19,8±3,4% для середовищ МРС і ГА відповідно при вирощуванні зразків з розведенням у 10 разів. Отже, цілком можна зробити висновок про те, що середовища МРС і ГА є більш сприятливими для дослідження мікроорганізмів кефірного грибка.

Висновки. Отримані у досліджені результати свідчать про різний ріст мікроорганізмів кефірного грибка на обраних стандартних середовищах. Окрім цього, підтверджено вплив обраних розведень закваски на вміст мікроорганізмів у готовому кефірі.

Список використаної літератури:

1. Santos C. A., Reis A. Microalgal symbiosis in biotechnology. Applied Microbiology and Biotechnology. 2014. Т. 98, № 13. С. 5839–5846.
2. Tailoring the Optimized Fermentation Conditions of SCOBY-Based Membranes and Milk Kefir Grains to Promote Various Functional Properties / M. Pihurov та ін. Foods. 2022. Т. 11, № 19. С. 3107.
3. Goršek A., Tramšek M. Kefir grains production–An approach for volume optimization of two-stage bioreactor system. Biochemical Engineering Journal. 2008. Т. 42, № 2. С. 153–158.
4. Traditional Grain-Based vs. Commercial Milk Kefirs, How Different Are They? / F. Nejati та ін. Applied Sciences. 2022. Т. 12, № 8. С. 3838.
5. Garrote G. L., Abraham A. G., De Antoni G. L. Characteristics of kefir prepared with different grain[ratio]milk ratios. Journal of dairy research. 1998. Т. 65, № 1. С. 149–154.
6. Influence of Different Growth Conditions on the Kefir Grains Production, used in the Kefiran Synthesis / C. R. Pop та ін. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology. 2014. Т. 71, № 2.
7. Margareth L. L., Nurwantoro N., Rizqiati H. Effect of Different Kefir Grain Starter Concentration on Yield, pH, CO2 Content, and Organoleptic Properties of Buffalo Milk Kefir. Journal of Applied Food Technology. 2020. Т. 7, № 1.
8. Інструкція щодо організації виробничого мікробіологічного контролю на підприємствах молочної промисловості. Київ : ННЦ «ІАЕ», 2014. 372 с.
9. Nejati F., Junne S., Neubauer P. A Big World in Small Grain: A Review of Natural Milk Kefir Starters. Microorganisms. 2020. Т. 8, № 2. С. 192.

ОГЛЯД МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНИХ ТА ІНЖЕНЕРНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ ПОКРАЩЕННЯ ВИРОБНИЦТВА СИРОЛІМУСУ

Чаленко М. А., Максімова А.Ю.
КПІ ім. Ігоря Сікорського

Вступ. Сіролімус, також відомий як рапаміцин, є макроциклічним лактонним антибіотиком (рис.1), що продукується бактеріями Streptomyces hygroscopicus, які були виділені з ґрунту регіону Вай-Атарі на Рапа-Нуї (острів Пасхи) [1]. В огляді було оцінено останні дослідження щодо використання молекулярно-біологічних методів для покращення виходу сиролімусу та зменшення вартості продукту. Рапаміцин — біла кристалічна тверда речовина з температурою плавлення від 183° до 185°C. За структурою це ліпофільний макроциклічний лактон, розчинний у більшості органічних розчинників і практично нерозчинний у воді. Структурно-хімічна формула: C51H79NO13. Молекулярна маса: 914,18 г/моль [2].

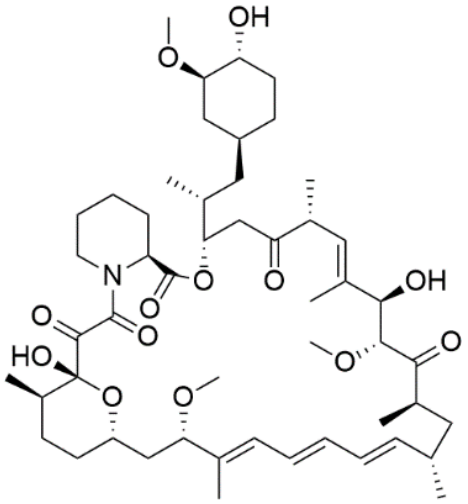


Рис.1 - Структурна формула Рапаміцину

Сиролімус відноситься до класу імуносупресивних препаратів і використовується для запобігання відторгнення трансплантованих органів та лікування деяких видів раку. Продукт діє шляхом зниження активації лімфоцитів, тим самим підтримуючи імунний захист організму від різних захворювань. Також цей препарат може мати протизапальну дію, тому він використовується в лікуванні деяких запальних захворювань.

Матеріали і методи. При підготовці даного огляду були використані наукові публікації, патенти, звіти та інші документи, які стосуються виробництва сиролімусу. Зокрема, додаткові дані отримано з офіційних веб-сайтів виробників та академічних дослідницьких організацій.

Результати та обговорення. Продукт діє як інгібітор мішеневого білка mTOR (молекулярна мішень на рівні рибосоми), відповідального за регуляцію клітинного росту та проліферації. Коли рапаміцин зв'язується з мішеневим білком mTOR, він утворює комплекс, який інгібує фосфорилювання протеїнів,

що регулюють клітинний ріст і поділ, таких як S6K та 4E-BP1. Це призводить до зупинки клітинного циклу та зниження проліферації клітин.

Сиролімус є триєновим макроциклічним полікетидом. У Streptomyces hygroscopicus три великі гени полікетидсинтази відповідають за біосинтез сіролімусу. Ці гени кодують 14 модулів, що містять ферменти (PKS), кожен з яких виконує певну роль у подовженні полікетиду сіролімусу.

Біосинтез рапаміцину здійснюється групою ферментів, відомих як Rapamycin PKS (скорочення від «полікетидсинтази»). Він складається з численних різноманітних ферментів, кожен із яких відіграє певну роль у синтезі рапаміцину. Такі ферменти, як декарбоксилази, редуктази, тіоестерази та інші, є частиною PKS рапаміцину, і кожен з них контролює власну фазу в процесі синтезу рапаміцину. Виробництво рапаміцину та інших полікетидних сполук можна додатково посилити, якщо зрозуміти, як функціонує PKS рапаміцину.

Три гени полікетидсинтази, rapA, rapB і rapC, кодують мультиферментні полікетидсинтази Raps1, Raps2 і Raps3 відповідно. Raps1 відповідає за перші чотири модулі і містить зону завантаження для стартового блоку. Вихідною ланкою є заміщена циклогексанкарбонова кислота, 4,5-дигідроксициклогекс-1-енкарбонова кислота, похідна шикімату. На початку процесу біосинтезу похідна шикімату закріплюється на CoA-лігазі в «домені завантаження» Raps1.

Після завершення модуля 14 фермент, що включає піпеколат (PIE) (виробляється геном RapP, суміжним з Raps3), зв’язується з активованим L-піпеколатом через тіоефірний зв’язок.

Особливо варто звернути увагу на те, що L-піпеколат є циклізацією L-лізину. Cheng та ін. повідомили про 150% збільшення вироблення сиролімусу S. Hygroscopicus після додавання L-лізину в хімічно визначене середовище [3].

Відомо, що продуктивність рапаміцину у дикого типу S. hygroscopicus низька. Тому були розроблені методи оптимізації середовища ферментації, методи класичного вдосконалення штаму, методи пов'язані з протопластами та методи скринінгу високої продуктивності. Група Демейна отримала вищу кількість рапаміцину від мутантів FC904 S. hygroscopicus, оброблених гентаміцином, що показало 60% підвищення виробництва рапаміцину порівняно з диким штамом [6].

Також було застосувано техніку протопластів, мутації, внутрішньо- та міжвидового злиття, яка не принесла значного прогресу. Однак, комбінація міжвидового злиття протопластів та одного етапу геномного змішування дозволила створити високопродуктивний штам, який виробляв 445 мг/л рапаміцину. Після досліджень, пов'язаних з протопластами та їх злиттям, було помічено, що майже всі високопродуктивні штами, які виробляли рапаміцин, мали схожий фенотип: округлі колонії з морщинистими краями та багато жовтих повітряних міцелію.

Додатково, досягнення покращення виробництва рапаміцину можна досягти за допомогою надекспресії генів, що кодують позитивні регуляторні білки, такі як rapH та rapG, або гетерологічної експресії гену aveR. Такі методи призводять до збільшення виробництва рапаміцину відповідно на 27-55% і 20-32% або в 2 рази [1].

Один з можливих методів генетичної інженерії для покращення виробництва сиролімусу - це інженерія геномів Streptomyces роду за допомогою систем CRISPR-Cas. Застосування CRISPR-Cas в генетичній інженерії дозволяє точно вибирати гени для модифікації і вносити необхідні зміни в геном організмів. У Streptomyces роду ця технологія може бути використана для покращення виробництва сиролімусу. Зокрема, можна вибрати гени, які кодують ферменти, необхідні для біосинтезу сиролімусу, і внести зміни, щоб збільшити їх ефективність. Крім того, можна використати CRISPR-Cas для видалення або внесення змін в гени, що впливають на виробництво сиролімусу або його якість.

Також одним з методів вдосконалення є покращення штаму бактерій, що виробляє рапаміцин, за допомогою мутагенезу в поєднанні з оптимізацією складу середовища та умов культивування. Застосування методів мутагенезу, таких як УФ-опромінення та обробка нітрозогуанідіном, дало змогу отримати штам-мутант, який виробляв 210 мг/л рапаміцину, що було в 5 разів більше, ніж у батьківського штаму. Далі вдалося домогтися додаткового покращення виробництва рапаміцину в 1,7 рази (360 мг/л) за допомогою оптимізації складу середовища, pH, температури та швидкості перемішування [3].

Щодо використання інженерних методів для оптимізації процесів культивування, дослідження останніх років були зосереджені на контролі pH та температури, використання фільтрації та мембранної технології для очищення та концентрування сиролімусу та оптимізації ПС. Дослідження показали, що оптимальний pH для виробництва рапаміцину складає 6,5-7,0, а оптимальна температура - 28-30 °C. Крім того, швидкість перемішування також має вплив на виробництво рапаміцину, і було встановлено, що оптимальна швидкість перемішування становить 300 об/хв [4].

Під час дослідження впливу різних джерел вуглецю на виробництво рапаміцину у S. rapamycinicus, було випробувано 35 джерел вуглецю, і зокрема, целобіоза, фруктоза, галактоза, інозитол, маноза, манітол і ксилоза призвели до збільшення виробництва рапаміцину. З позитивних джерел вуглецю 2 г/л фруктози було визнано найкращим для виробництва рапаміцину. При випробуванні вторинних джерел вуглецю, використовуючи фруктозу в концентрації 2 і 5 г/л, маноза давала найкращий вихід [3].

Аналогічно, було досліджено вплив амінокислот як джерел азоту на зростання S. hygroscopicus C9 та виробництво рапаміцину. Було випробувано 20 різних амінокислот у концентраціях 0,5–4 г/л на виробництво рапаміцину в якості попереднього дослідження [5].

У результаті ферментацію було доповнено аспартовою кислотою, аргініном та гістидином, і ця комбінація виявилася ефективною для розробки хімічно визначеного середовища для виробництва рапаміцину. З використанням хімічно визначеного середовища і живлення лізином, прекурсором піпеколінової кислоти, біосинтез рапаміцину збільшився в 1,5 рази [4]. Однак фенілаланін та метіонін у концентрації 0,5 г / л зменшили виробництво рапаміцину приблизно на 0,6 разів.

Висновки. Для покращення виробництва рапаміцину було розроблено кілька методів. Оптимізація середовища ферментації, методи класичного вдосконалення штаму, методи пов'язані з протопластами та методи скринінгу високої продуктивності використовуються для збільшення виробництва рапаміцину. Мутагенез у поєднанні з оптимізацією складу середовища та умов культивування також використовується для покращення штаму, що виробляє рапаміцин. Додатково, надекспресія генів, що кодують позитивні регуляторні білки, або гетерологічна експресія гену aveR також можуть призвести до збільшення виробництва рапаміцину. Також було випробувано 20 різних амінокислот у концентрації 0,5 г/л, і виявлено, що додавання L-лізину призвело до найбільшого зростання виробництва рапаміцину. Дослідження також показали, що оптимальна концентрація L-лізину для виробництва рапаміцину складає 2 г/л.

З огляду на надану інформацію, можна зробити висновок, що краще застосовувати комплексний підхід, використовуючи кілька методів одночасно, щоб досягти найбільш ефективного підвищення виробництва сиролімусу. Наприклад, поєднання міжвидового злиття протопластів та генетичної інженерії з використанням CRISPR-Cas може дати значні позитивні результати.

Список використаної літератури:

1. Huang, M., Li, M., Feng, Z., Liu, Y., Chu, Y., & Tian, Y. (2011). Enhanced rapamycin production in Streptomyces hygroscopicus by integrative expression of aveR, a LAL family transcriptional regulator. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27, 2103-2109.

2. Chen X, Wei P, Fan L, Yang D, Zhu X, Shen W, et al. 2009. Generation of high-yield rapamycin-producing strains through protoplasts-related techniques. Appl. Microbiol. Biotechnol. 83: 507-512

3. Kojima, I., Cheng, Y. R., Mohan, V., & Demain, A. L. (1995). Carbon source nutrition of rapamycin biosynthesis in Streptomyces hygroscopicus. Journal of industrial microbiology, 14, 436-439.

4. Sinha, R., Singh, S., & Srivastava, P. (2014). Studies on process optimization methods for rapamycin production using Streptomyces hygroscopicus ATCC 29253. Bioprocess and biosystems engineering, 37, 829-840.

5. Lee, M. S., Kojima, I., & Demain, A. L. (1997). Effect of nitrogen source on biosynthesis of rapamycin by Streptomyces hygroscopicus. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 19(2), 83-86.

6. Demain, A. L. Pickles, pectin, and penicillin. Annu. Rev. Microbiol. 58, 1–42 (2004).

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ЕКЗОГЛЮКАНАЗИ У БАЗИДІОМІЦЕТУ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE*

Чашка-Ратушна А. В., Ліновицька В. М.
Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», linovytska.vita@lll.kpi.ua

Вступ. Дереворуйнівні гриби, і в першу чергу ті, що належать до класу *Basidiomycetes*, мають велике значення у природних процесах розкладання деревини та іншої рослинної біомаси. Це пов'язано насамперед з ферментами, які ці гриби виробляють. Одними з важливих ферментів, що мають промислове значення є екзоглюканази (целобіогідролази) [1-3]. Екзоглюканази відщеплюють целобіозу та глюкозу від целюлози і целоолігосахаридів - полісахаридів, що містяться у різних організмах, зокрема у рослинах та грибах [4]. Оскільки екзоглюканази беруть участь у розкладанні нативної важкогідролізуємої целюлози на легкогідролізуємі складові, які здатні утилізувати набагато більше видів живих організмів, це дозволяє розглядати використання комплексних препаратів, що містять екзоцелюлази, перспективними для біотрансформації рослинної біомаси в різноманітні джерела енергії, в тому числі для виробництва біопалива [1, 2].

Базидіоміцет *Schizophyllum commune* Fr. є одним з поширених в природі видів грибів, який є відомим своїми ферментативними та лікувально-профілактичними властивостями, завдяки яким має потенціал застосування в медичній і біотехнологічній галузях [5-7]. У зв'язку з фізіолого-біохімічними особливостями та активністю гідролітичних ферментів, зокрема екзоглюканази, даний базидіоміцет є перспективним для подальшого вивчення. Дослідження активності екзоглюканази в базидіоміцету *Schizophyllum commune* є актуальним для створення нових біотехнологій отримання ферментних препаратів целюлаз для агропромислового комплексу та різних галузей промисловості.

Метою нашої роботи є виявлення та дослідження активності екзо-β-глюканази базидієвого у штаму гриба *Schizophyllum commune.*

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження був штам 1766 *Schizophyllum commune* з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України ІБК.

Активність екзо-β-глюканази (ЕС 3.2.1.91 екзоцелобіогідролаза, 1,4-β-D-глюканцелобіогідролаза) оцінювали за рівнем гідролізу фільтрувального паперу (ФП-активність, звикористанням Whatman № 1, щільність 80 г/м^2),) [3]. Склад реакційних сумішей при визначенні ферментативної активності та умови проведення реакцій відповідали рекомендаціям IUPAC [8].

Кількість глюкози, що утворювалась у результаті дії ферменту, визначали фотометрично феріціанідним методом [9]. За одиницю ферментативної активності (international units – IU) приймали утворення 1 мкмоль редукуючих цукрів (для полімерних субстратів) протягом 1 хв за температури 40 °С при додаванні 1 мл культурального фільтрату. (IU/см^3, мкмоль/(хв×см^3))

Ферментативну екзоглюканазну активність у штаму *S. commune* вивчали на рідкому синтетичному середовищі такого складу (г/дм^3): NH_4NO_3 – 3;

$MgSO_4x3H_2O$ – 0,5; глюкоза – 30, в різні варіанти якого додавали пептон – 10, або бурякову мелясу – 10, або подрібнений фільтрувальний папір – 10, або карбоксиметилцелюлозу - 10. Глибинне культивування проводили на орбітальному шейкері в умовах постійного перемішування (180 об/хв), в колбах Ерленмеєра на 250 мл, за температури 30 °С, протягом 10 діб, в трьох повторах.

Результати та обговорення. В результаті проведеного глибинного культивування було визначено, що максимальне значення активності екзо-β-глюканази у штаму *S. commune* 1766 склало 0,037±0,008 IU/см^3 на синтетичному середовищі з фільтрувальним папером (6 доба культивування). При цьому на середовищі з карбоксиметилцелюлозою активність екзоглюканази була меншою в 1,3 разі і склала 0,028±0,011 IU/см^3. Як і очікувалося, на середовищі з мелясою і особливо з пептоном, активність екзо-β-глюканази була практично відсутньою, що пояснюється відсутністю в середовищі індукторів біосинтезу цього ферменту (целюлози або її похідних).

Висновки. Отже, активність екзо-β-глюканази базидієвого гриба *S. commune* залежить від складу живильного середовища і потребує подальших досліджень.

Список використаної літератури:

1. Бойко С.М. Целюлази базидієвих грибів для розробки технологій біоконверсії клітковини. Український ботанічний журнал, 2020. 77(5): 378–385.
2. Sweeney M. D., Xu F. Biomass Converting Enzymes as Industrial Biocatalysts for Fuels and Chemicals: Recent Developments. *Catalysts*. 2012. Vol. 2, no. 2. P. 244–263.
3. Древаль К. Г., Бойко М. І. Целюлази з культуральної рідини базидіоміцетів. Біотехнологія. 2013. Vol. 6, № 2. С. 107-114. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/biot_2013_6_2_14
4. Синицын А. П., Черноглазов В. М., Гусаков А. В. Методы изучения и свойства целлюлозолитических ферментов / Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. 1993. Т. 25., 152 с.
5. Бухало А.С., Дуган О.М., Максимюк М.Р., Ліновицька В.М. Ферментативна активність вищого базидіального гриба *Schizophyllum commune. Вісник Національного авіаційного університету*. 2012. № 3. С. 154-159.
6. Arunrattanamook N., Sornlake W., Champreda V. Co-production of schizophyllan and cellulolytic enzymes from bagasse by *Schizophyllum commune*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2022. URL: https://doi.org/10.1093/bbb/zbac091
7. Beta-Glucan in Foods and Health Benefits / ed. by S. Aoe, T. Morita, N. Ohno. MDPI, 2022. URL: https://doi.org/10.3390/books978-3-0365-5108-1
8. Ghose T.K. Measurement of cellulase activity. Pure and Applied Chemistry, 1987. 59(2): 257–268. https://doi.org/10.1351/pac198759020257
9. Скуратовская О. Д. Контроль качества продукции физико-химическими методами. 3. Сахар и сахарные кондитерские изделия. 2-е изд. перераб. и доп. М.: ДеЛи принт, 2005. 124 с.

ВПЛИВ МАГНІТНОГО ПОЛЯ НА ВИЖИВАНІСТЬ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ АДСОРБОВАНОЇ НА ВИСОКОДИСПЕРСНОМУ КРЕМНЕЗЕМІ ПРОБІОТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS,* НАРІНЕ

Чаленко М. А.[1], Маринченко Л. В.[1,2], Потемська О. І.[2], Даниленко С. Г.[2]
[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського
[2]Інститут продовольчих ресурсів НААН України

Вступ. Дане дослідження продовжує цикл експериментів по аналізу раціональних умов сорбції пробіотичних культур молочнокислих бактерій з препаратами високодисперсного кремнезему для подальшого використання у харчовому чи фармацевтичному виробництві. Попередні дослідження вказують на те, що за моделювання умов шлунково-кишкового тракту виживаність іммобілізованих клітин пробіотичного штаму *Bifidobacterium longum* на високодисперсному кремнеземі була вищою, ніж у випадку нативних клітин [1].

Було визначено, що магнітне поле (МП) сприяло появі позитивних зарядів на поверхні кремнієвої пластинки, що покращує взаємодію між клітинами та кремнеземовою матрицею [2]. Тому існували обґрунтовані припущення, що постійне магнітне поле може інтенсифікувати іммобілізацію пробіотичних клітин на високодисперсному кремнеземі. Водночас МП може бути стресовим фактором для культури, пригнічуючи функціональні властивості та загальну виживаність бактерій.

Метою даної роботи було дослідження впливу постійного магнітного поля на адсорбцію пробіотичної культури *Lactobacillus acidophilus,* Наріне на високодисперсному кремнеземі за показниками виживаності та функціональних властивостей бактерій (сквашування молока).

Матеріали і методи. Досліджуваним біологічним об’єктом була культура *Lactobacillus acidophilus*, Наріне, яка для експерименту була надана Інститутом продовольчих ресурсів НААН.

Як сорбенти було використано препарати високодисперсного кремнезему, гідрогелі: «Ентеросгель» (діюча р-на: метилкремнієва кислота; допоміжні речовини: сахарин натрію дигідрат, натрію цикламат, вода очищена), «Токсин.NET» (діюча р-на: кремнію діоксид; допоміжні речовини: кислота лимонна, натрію бензоат, калію сорбат, гліцерин, карбоксиметилцелюлоза, вода очищена, ароматизатор «банан»).

Магнітне поле створювали за допомогою ніодимових магнітів напруженістю 0,03 Тл та 0,09 Тл.

Результати та обговорення. Проведені дослідження показали (рис.1), що магнітне поле напруженістю 0,03 та 0,09 Тл незначно, у межах похибки, пригнічує функціональні властивості культури пробіотиків, визначені за граничною кислотністю сквашеного молока: до 73-75 % у випадку з TN.

Водночас, у разі адсорбції на препараті «Ентеросгель» негативний вплив магнітного поля суттєво зменшувався: кислотність сквашеного продукту становила від 88 до 96 % від кислотності продукту, сквашеного нативним препаратом.

Варто наголосити, що за впливу МП напруженістю 0,09 Тл показники були кращі, ніж за впливу 0,03 Тл. Слід зазначити, що термін, протягом якого утворився згусток, у разі дії МП напруженістю 0,09 Тл, також був меншим, ніж у разі дії МП напруженістю 0,03 Тл. Можна зробити припущення про те, що МП позитивно впливає на ключові ензими, задіяні в процесі сквашування, що також не суперечить дослідженням, наприклад, про позитивну роль МП в підвищенні швидкості ферментативної реакції перетворення пірувату в лактат за допомогою лактатдегідрогенази.

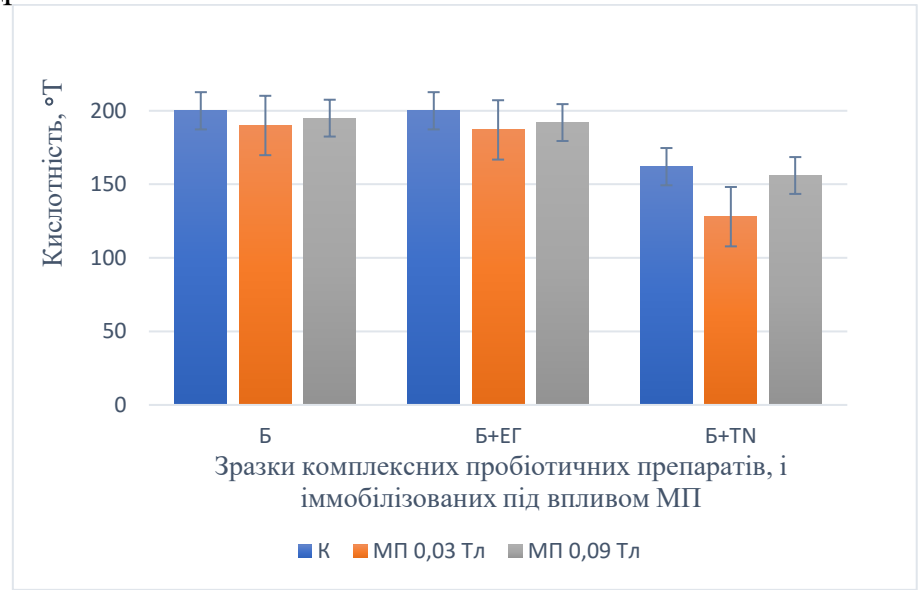
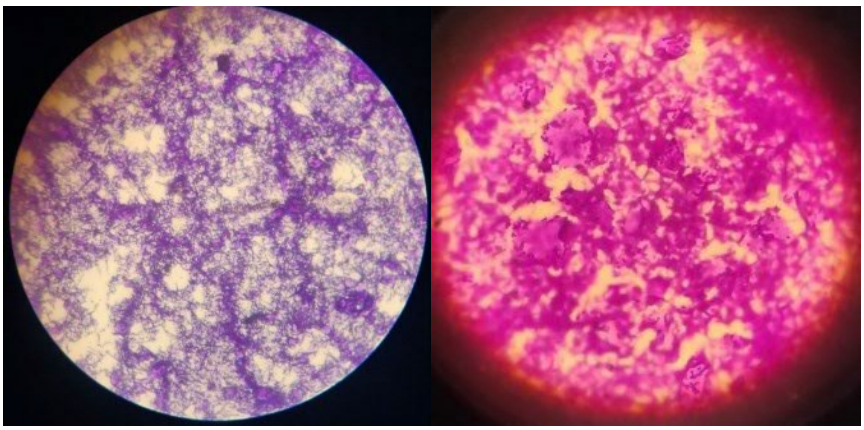


Рис. 1. Значення кислотності, °Т , що демонструє результати впливу МП на здатність сквашування молока нативною та іммобілізованою культурою *Lactobacillus acidophilus,* Наріне, де Б – біомаса, ЕГ – «Ентеросгель», TN – «Токсин.NET», К – контроль (нативна культура)

Отже, іммобілізація на препараті «Ентеросгель» без дії магнітного поля майже не спричиняла негативного впливу на функціональність пробіотиків, що підтверджує наші попередні дослідження [3]. Дійсно, термін сквашування (утворення згустку) також збільшувався не суттєво.

Було також проведено визначення виживаності адсорбованих пробіотичних культур за впливу МП напруженістю 0,03 та 0,09 Тл. Визначено, що виживаність була незначно нижчою за виживаність препаратів, отриманих без впливу магнітного поля: показник КУО мав той самий порядок, що і адсорбований препарат. Проте, порівняно з контролем, іммобілізовані клітини мали на два порядки гіршу виживаність. Цей факт разом з результатами експериментів зі сквашування молока підтверджує попереднє припущення про методичну ваду методики визначення виживаності іммобілізованого препарату чашковим методом Коха.

Дійсно, сорбовані клітини фізично не мали доступу до поживного середовища гідролізованого агару, оскільки захищені препаратом (рис.2), і тому не давали росту колоній. Натомість, у рідкому середовищі такі клітини функціональності майже не втрачали.



а) б)

Рис.2. Мікрофотографії іммобілізованих клітин: а) *L. acidophilus,* Наріне на препараті «Ентеросгель»; б) *L. acidophilus,* Наріне на препараті «Токсин.NET»

Аналіз отриманих даних показав, що результати виживаності та функціональної активності культури не корелюють між собою. Коефіцієнт кореляції Пірсона склав 0,39, а коефіцієнт детермінації – 0,15, що вказує на слабку залежність між значеннями.

Висновки. Виживаність нативної та адсорбованої пробіотичної культури *Lactobacillus acidophilus,* Наріне на препараті високодисперсного кремнезему «Ентеросгель» в магнітному полі напруженістю 0,03 та 0,09 Тл була нижчою за виживаність препаратів, отриманих без впливу магнітного поля, що може свідчити про негативний вплив МП. Водночас, таке саме МП незначно пригнічувало функціональні властивості іммобілізованої культури пробіотиків, визначені за граничною кислотністю сквашеного молока: кислотність сквашеного продукту становила 88 % від кислотності продукту, сквашеного нативним препаратом, а термін сквашування збільшувався лише на 3-4 %.

Список використаної літератури:

1. Danylenko , S., Marynchenko, L., Bortnyk, V., Potemska, O., & Nizhelska, O. (2022). Use of Highly Dispersed Silica in Biotechnology of Complex Probiotic Product Based on *Bifidobacteria*. Innovative Biosystems and Bioengineering, 6(1), 16–24. https://doi.org/10.20535/ibb.2022.6.1.256179

2. Marynchenko, L., Nizhelska, O., Kurylyuk, A., Makara, V., & Naumenko, S. (2020). Observed effects of electromagnetic fields action on yeast and bacteria cells attached to surfaces. In 2020 IEEE 40th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO), 603-608. 10.1109/ELNANO50318.2020.9088883.

3. Danylenko S., Romanchuk I., Marynchenko L. Immobilization of probiotic cultures with enterosorbents based on highly dispersed silica // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2021. https://doi.org/10.15414/jmbfs.3334

ВИБІР МАСЛЯНОГО АДЬЮВАНТУ ДЛЯ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ ІНАКТИВОВАНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ

Чегринець А.І.[1,2], Салій О.О., Любецький О.В.[1]
[1]ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Київ, a_chegrynets@biotestlab.net
[2] Кафедра біотехнології та мікробіології
Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

Вступ. Ньюкаслська хвороба є глобальною проблемою, фіксується в більшості країн як найпоширеніша та найшкідливіша вірулентна хвороба домашньої свійської птиці, яка вражає птахівництво. Боротьба з Ньюкаслською хворобою включає правильне введення ефективних вакцин, щоб зменшити або ліквідувати клінічну картину захворювання [1].

Одним із основних чинників, що впливає на якість інактивованої вакцини є масляний ад'ювант. Механізм дії ад'юванта заснований на нерозщеплені мінерального масла на метаболіти, за рахунок чого створюється «депо» з антигеном в середині, що чинить імуностимулюючу дію протягом тривалого часу.Додавання ад'юванта може дозволити зменшити використання антигену, щоб стимулювати імунну відповідь, тим самим знижуючи вартість вакцини. Таким чином, ефективність інактивованих вакцин може бути значно збільшена за рахунок поєднання антигену з ад'ювантом [2].

У зв'язку з обмеженістю використовуваних у виробництві неспецифічних стимуляторів імуногенезу вибір альтернативного ад'ювантного компонента вакцини є важливим фактором. Враховуючи логістичні труднощі сьогодення у зв'язку з військовим станом, які впливають на закупівлю та доставку сировини необхідної якості, метою дослідження був вибір масляного ад'юванта, що являється важливим фактором у виробництві інактивованих емульсійних вакцин.

Матеріали і методи. Проводили дослідження зразків емульгованих вакцин, приготованих з використанням масляних адьювантів на основі мінеральних масел різних світових виробників (зразок №1 – «Parafluid» (Німеччина), зразок №2 – «Klearol» (Нідерланди) та зразок №3 – «Oyster» (Туреччина)) в суміші з поверхнево-активними речовинами – емульгаторами. В якості водної фази використовували інактивований антиген вірусу Ньюкаслської хвороби виробництва ТОВ «Біотестлаб». Приготування зразків вакцини проводили змішуванням компонентів масляної і водної фази у співвідношенні, що забезпечує утворення стійкої емульсії типу «вода у олії».

Визначення кінематичної в'язкості проводили з використанням капілярного віскозиметру. Кінематична в'язкість вакцини повинна бути ≤ 200 мм^2/с. Високий показник в'язкості речовини призводить до складності проходження вакцини через голку при застосуванні вакцини, що може значно вплинути на тривалість проведення процесу вакцинації, оскільки введення вакцини передбачено методом ін'єкції.

Дослідження нешкідливості проводили на ВПФ (вільна від патогенної мікрофлори) птиці одноденного віку, отриманої від ВПФ ембріонів, яких протягом всього періоду спостереження утримували у боксах для ізольованого утримання на базі віварію ТОВ «БІОТЕСЛАБ». Курчат розділили на 4 групи (I, II,

III, IV) по 4 голови в кожній (n=4). Вакцину вводили підшкірно в ділянку шиї. Нешкідливою вважали вакцину, після введення якої впродовж 14 діб спостереження вся досліджувана птиця залишалась здоровою і не проявляла клінічних ознак, що характерні для Ньюкаслської хвороби. Оцінку реакції тканин в місці введення проводили методом розтину курей на 14 добу після вакцинації.

Результати і обговорення. Результати визначення кінематичної в'язкості зразку №1 були на рівні 83 мм^2/с, що більше, ніж у зразку №2 – 79 мм^2/с, але суттєво менше в порівнянні із результатами зразку №3 – 148 мм^2/с. Результати кінематичної в'язкості досліджуваних зразків емульсійних вакцин представлені у таблиці 1. Усі досліджувані зразки вакцини забезпечували прийнятний рівень в'язкості відносно встановленого критерію ≤ 200 мм^2/с, що сприяло текучості вакцини та забезпечувало проходження через голку під час застосування.

Таблиця 1. Результати визначення кінематичної в'язкості досліджуваних зразків емульсійних вакцин (x ± SD)

№ зразка вакцини	Мінеральне масло	В'язкість зразку вакцини, мм^2/с
1	«Parafluid» (Німеччина)	83 ± 1,41
2	«Klearol» (Нідерланди)	79 ± 0,82
3	«Oyster» (Туреччина)	148 ± 1,41

Облік результатів визначення нешкідливості досліджуваних зразків емульсійних вакцин проводили шляхом спостереження за загальним станом курчат протягом всього періоду спостереження (14 діб). Всі курчата залишалися здоровими та не мали клінічних ознак, характерних для Ньюкаслської хвороби. За результатами розтину курчат через 14 днів після вакцинації в місці введення вакцини ознак ураження у вигляді запалення мязів не спостерігалося.

Висновки. На основі отриманих результатів по показнику нешкідливість можна зробити висновок, що досліджувані зразки масляних адьювантів являються нешкідливими у складі інактивованої вакцини проти Ньюкаслської хвороби. При дослідженні зразків вакцини по показнику кінематичної в'язкості було встановлено, що зразок вакцини №3 має найвищий показник і, у порівнянні з двома іншими зразками, може вплинути на споживчі властивості та призвести до подовження часу вакцинації. Всі досліджувані масляні адьюванти забезпечують якість інактивованої вакцини і можуть бути використані у складі вакцини для профілактики Ньюкаслської хвороби серед курей.

Список використаної літератури:

1. Chegrynets, A. I., Saliy, O. O., Sobko, I. A., & Krasinko, V. O. (2021). Immunological evaluation of inactivated Newcastle disease vaccine depending on adjuvant composition. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 12(3), 490-497. https://doi.org/10.15421/022167

2. Чегринець, А.І. Дослідження впливу ад'ювантів на фізичні властивості інактивованої вакцини проти хвороби Ньюкасла / А.І. Чегринець, О.О. Салій, О.В. Любецький // Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 26 листопада 2020 року - с.496-497.

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРОПІОНОВОКИСЛИХ ТА МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ В УНІФІКОВАНИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Штогрин Н.А., Васіна Л.М.
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
shtohryn.nataliia@chnu.edu.ua

Вступ. Молочнокислі бактерії посідають чільне місце серед мікроорганізмів, які входять до складу пробіотиків. Найбільш розповсюдженими пробіотичними культурами (доведена їх висока доцільність для відновлення балансу аутомікрофлори організму людини, багатьох тварин, в тому числі й гідробіонтів) є *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* [1].

Лактобацили здатні пригнічувати патогенні та умовно-патогенні мікроорганізми за рахунок виділення органічних кислот, в першу чергу молочної та оцтової. Оцтова кислота, порівнянно з молочною, має ширший спектр антимікробної активності.

Види *Bifidobacterium* володіють імунологічною, нейрогормональною та протизапальною дією. Антагоністична активність біфідобактерій забезпечується як неспецифічними механізмами, такими як продукція коротколанцюгових жирних кислот та конкуренція за поживні речовини і сайти прикріплення до кишкового епітелію, так і синтезом бактеріоцинів різних класів [2].

У аквакультурі пробіотики передусім використовуються як дієва альтернатива антибіотикам та лікувальним препаратам хімічної природи. Пробіотики посилюють природну резистентність гідробіонтів на різних стадіях життєвого циклу за рахунок активації імунної системи. Часто вирішальну роль у боротьбі із захворюваннями відіграють саме неспецифічні імунні відповіді [3].

Однак, в останні роки все частіше спостерігаються випадки, коли позитивний ефект пробіотиків, навіть при тривалому застосуванні, носить тимчасовий характер, а часом і повністю відсутній. Тому, все більшу увагу привертають пропіоновокислі бактерії, що входять до складу мікрофлори ШКТ різних організмів. Пропіоновокислі бактерії утворюють широкий діапазон біологічно активних сполук, зокрема органічні кислоти, пропіоніни, вітамін B_{12} та біфідогенні фактори. Їм притаманні високі адгезивні властивості, антимутагенна дія, антивірусний ефект, на відміну від інших пробіотичних організмів [4].

Тому, метою роботи було порівняння ефективності культивування молочнокислих та пропіоновокислих бактерій в елективних та уніфікованих поживних середовищах.

Матеріали та методи. Для культивування лактобацил використовували середовище MRS, біфідобактерій – середовище Блаурокка, для пропіоновокислих бактерій – авторське середовище, що включало основні складові кількох елективних середовищ. Крім того, базуючись на ретельному аналізі компонентного складу елективних, для досліджуваних бактерій, середовищ готували два уніфіковані комплексні середовища, які містили приготовані нами дріжджовий та кукурудзяний екстракти відповідно. Отже,

кожну культуру вирощували у трьох поживних середовищах при 37 ˚С впродовж 24 год. Щільність культур оцінювали за допомогою фотоелектроколориметра, вимірюючи оптичну густину за довжини хвилі 540 нм (контролем слугували стерильні поживні середовища). Окрім того, аналізували вміст органічних кислот у культуральному середовищі та обчислювали рівень ацетату та лактату, враховуючи, що 1 мл 1н NaOH відповідає 0,06 г оцтової кислоти, а 1 мл 0,1н NaOH відповідає 0, 009 г молочної кислоти.

Результати та обговорення. Експериментальні дані вказують на активний ріст пропіоновокислих бактерій в обох уніфікованих середовищах, порівняно з елективним середовищем.

Біфідобактерії продемонстрували нижчу інтенсивність нагромадження біомаси в уніфікованих поживних середовищах, тоді як лактобацили активно зростали в усіх трьох досліджуваних середовищах.

Аналогічні тенденції виявлені і при оцінці вмісту органічних кислот у культуральному середовищі. Так, більша кількість ацетату продукувалася *Propionibacterium* при вирощуванні їх в уніфікованих комплексних середовищах.

У досліджуваних представників роду *Bifidobacterium* активніше утворення коротколанцюгових жирних кислот спостерігалось при культивуванні у елективному середовищі. *Lactobacillus*, в свою чергу, продемонстрували активне зброджування вуглеводів при вирощуваннні на елективному та комплексному середовищі з дріжджовим екстрактом.

Висновки. Дослідження показало, що досліджувані нами культури лактобацил, біфідо- та пропіоновокислих бактерій можуть зростати на уніфікованих комплексних поживних середовищах. Культивування на таких середовищах сприяє посиленому продукуванню коротколанцюгових жирних кислот у *Propionibacterium* та *Lactobacillus*.

Список використаної літератури:

1. Wuertz S, Schroeder A, Wanka KM. Probiotics in Fish Nutrition—Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals? Water. 2021; 13(10):1348. https://doi.org/10.3390/w13101348.

2. Martinez, F.A.C. Bacteriocin production by Bifidobacterium spp. A review. / F. A. C. Martinez, E. M. Balciunas, A. Converti, P. D. Cotter, R. P. de Souza Oliveira // Biotechnol. Adv. – 2013. – Т. 31. – № 4. – С. 482–488.

3. Hoseinifar, S. H., Sun, Y. Z., Wang, A., & Zhou, Z. (2018). Probiotics as Means of Diseases Control in Aquaculture, a Review of Current Knowledge and Future Perspectives. Front Microbiol., 9, 2429. Published 2018 Oct 12. doi:10.3389/fmicb.2018.02429.

4. Krupytska, L., Kaprelyants, L., Kylymenchuk, O., & Velichko, T. Non-waste biotechnology of obtaining a symbiotic and a metabolite on the basis of Bifidobacterium longum – Ya 3 and Propionibacterium shermanii – 4. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Food Technologies. 2018. 20(85), 148-154. https://doi.org/10.15421/nvlvet8527.

Секція 2

ПРИРОДООХОРОННІ БІОТЕХНОЛОГІЇ, БІОЕНЕРГЕТИКА ТА БІОІНФОРМАТИКА

Section 2

ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGIES, BIOENERGETICS AND BIOINFORMATICS

REGULATION OF CRISPR-CAS TYPE III ACTIVITY BY MEMBRANE-ASSOCIATED PROTEINS WITH CARF AND SAVED DOMAINS

Vasylchenko Y.[1], Malinauskaite L.[2]
[1]Educational and Scientific Center "Institute of Biology and Medicine" Taras Shevchenko Kyiv National University, vas.yaroslav.24@gmail.com
[2] Vilnius University Life Sciences Center

Introduction. The type III CRISPR-Cas system is a prokaryotic adaptive immune system that confers immunity against invading mobile genetic elements (MGEs). This system involves the use of a multi-subunit effector complex to target foreign DNA transcripts complementary to a guide/CRISPR RNA (crRNA). Type III CRISPR-Cas has an additional layer of protection that includes the production of signaling molecules and effector proteins that respond to them. This system provides a wide range of potential defense pathways involving nucleases, transcription factors, proteases, deaminases, and membrane-associated proteins [1]. Therefore, tight and specific regulation of the activation of accessory proteins has evolved, exhibiting properties such as signal amplification, autoregulation, and tuning the concentration of signaling molecules.

The affiliation of various associated proteins containing CARF and SAVED domains to type III CRISPR-Cas systems, which bind cyclic adenylates, was investigated and their potential role in the mechanism of immunity was determined. Most of the associated proteins studied so far have been shown to be non-specific nucleases. Multiple transmembrane proteins with CARF or SAVED domains (CARF/SAVED-TM) were identified among them [2]. However, their function in the mechanism of immunity is the least understood. This study aimed to review and generalize current hypotheses regarding CARF/SAVED-TM.

A genomic neighborhood analysis of type III CRISPR-Cas loci revealed numerous CARF/SAVED-TMs, among other ancillary proteins, suggesting multiple potential cOA-based defense pathways [2].

Materials and methods. Several methods were employed in this study. Firstly, a review and generalization of current hypotheses regarding CARF/SAVED-TM were performed. Secondly, schematic representations were created to illustrate the possible regulatory mechanisms of CARF/SAVED-TM in the type III CRISPR-Cas systems (Fig. 1.).

Results and discussion. The results of the work allow us to assume the possible functions of CARF/SAVED-TM. The following hypotheses are considered:

1. CARF/SAVED-TM in type III CRISPR-Cas systems may play a significant role in the degradation of cyclic oligoadenylate second messengers (cOAn) through ring nuclease activity, weakening or disabling ancillary proteins-mediated immune response (Fig. 1. A) [3].

2. CARF-TM proteins can potentially lead to altruistic cell death, possibly mediated by cell hyperpolarization through the opening or formation of ion channels (Fig. 1. B) [1].

3. SAVED-TM proteins may be involved in intracellular signaling, transmitting the presence of infection to other bacteria in the population to strengthen an immune response (Fig. 1. C) [3].

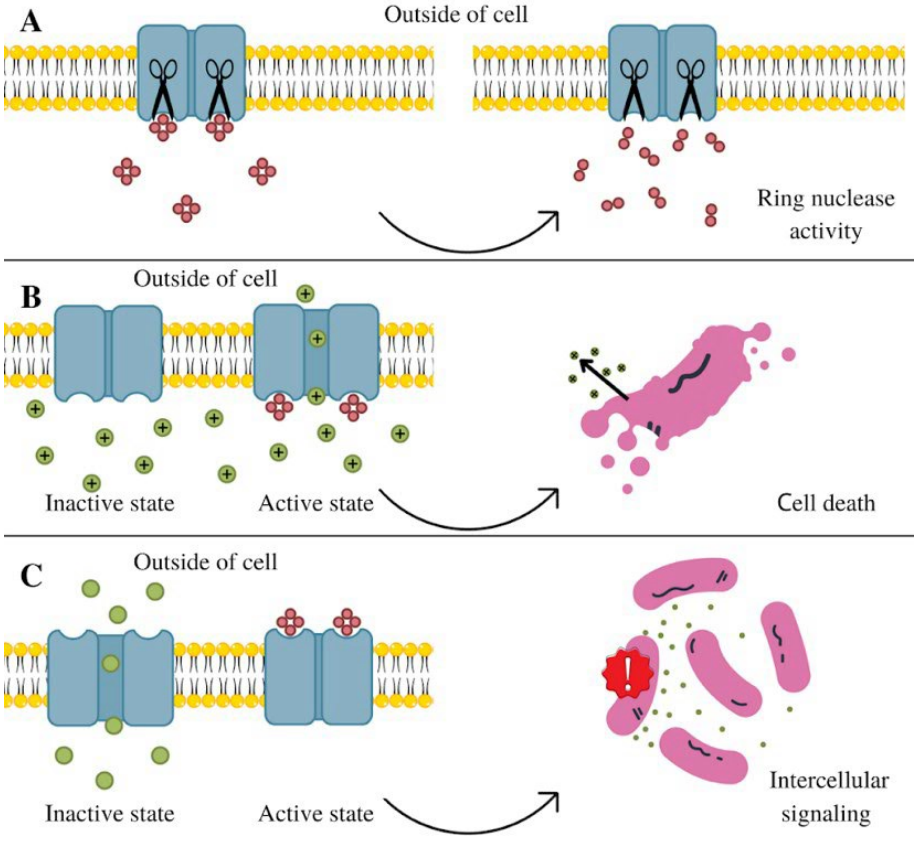


Fig. 1. Schematic representation of possible regulations mechanism of CARF/SAVED-TM in type III CRISPR-Cas systems. (A) The degradation of cOAn molecules through ring nuclease activity can lead to additional regulation of other ancillary proteins, further modulating the CRISPR-Cas immune response. (B) The activation of CARF/SAVED-TM by cOAn, results in opening of ion channels, causing cell death. (C) The released signaling molecules are initiating signal transduction, which involves the transmission of signals to other cells about the presence of an infection.

Conclusions. Understanding the regulation of type III CRISPR-Cas activity by membrane-associated proteins may lead to new biotechnological applications and expand our knowledge of cOA-dependent intermolecular communication pathways. The discovery of cOA-based signaling in type III CRISPR-Cas systems and the production of cyclic oligoadenylate second messengers are potential targets for new biotechnological developments.

In this study, we defined three of the most promising hypothesis about the possible functions of CARF/SAVED-TM and the regulation of CRISPR-Cas type III activity by these proteins.

References:

1. Steens J. A., Salazar C. R. P., Staals R. H. J. The diverse arsenal of type III CRISPR–Cas-associated CARF and SAVED effectors. *Biochemical Society Transactions*. 2022. URL: https://doi.org/10.1042/bst20220289

2. Shmakov S. A., Makarova K. S., Wolf Y. I., Severinov K. V., Koonin E. V. Systematic prediction of genes functionally linked to CRISPR-Cas systems by gene neighborhood analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018. URL: https://doi.org/10.1073/pnas.1803440115

3. Beljouw S. P. B., Sanders J., Rodríguez-Molina A., Brouns S. J. J. RNA-targeting CRISPR–Cas systems. *Nature Reviews Microbiology*. 2023. URL: https://doi.org/10.1038/s41579-022-00793-y

МЕТОДИ ПОПЕРЕДНЬОЇ ОБРОБКИ ОРГАНІЧНОЇ ФРАКЦІЇ ТВЕРДИХ ПОБУТОВИХ ВІДХОДІВ ДЛЯ АНАЕРОБНОГО БІОЛОГІЧНОГО ЗБРОДЖУВАННЯ

Голець Д.О., Зубченко Л.С.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, holets.daria@lll.kpi.ua

Вступ. На даний час у світі стає все більш актуальна екологічна проблема утилізації та знешкодження твердих побутових відходів (ТПВ). З кожним роком кількість відходів експоненційно зростає через те, що збільшується кількість населення, підвищуються споживчі потреби та зростає використання нових технологій, виробів для пакування та зберігання тощо.

Річний обсяг усіх відходів, що утворюються у світі, оцінюється в межах від 7 до 9 мільярдів тонн, з яких більше 2 мільярдів тонн представляють собою тверді побутові відходи (ТПВ) [1,2], виробництво яких, за прогнозами, досягне 3,4 мільярдів тонн до 2050 року. Серед органічних відходів виробництво біовідходів досягло 86 мільйонів тонн у країнах-членах ЄС [3]. На відсортовану фракцію біовідходів, або її ще називають органічною фракцією ТПВ, припадає 42,3% від загального виробництва, але їх частка буде збільшуватися, оскільки до кінця 2023 року роздільне збирання ТПВ в Україні стане обов'язковим [3,4].

Окрім проблеми поводження з відходами, людство стикається з енергетичною проблемою, оскільки викопні запаси природних ресурсів поступово виснажуються. Крім того, спалювання ТПВ та захоронення їх на полігонах, а також процес добування викопних джерел енергії, спричиняє екологічні проблеми. У рамках Нового зеленого курсу Європейський Союз (ЄС) прагне досягти вуглецевої нейтральності до 2050 року [5]. Виробництво біоенергії є основою кліматичної стратегії ЄС, оскільки на нього припадає 70% загального постачання відновлюваної енергії [6]. Одним з перспективних варіантів використання ТПВ як енергетичного ресурсу є анаеробне зброджування. Анаеробне зброджування органічних відходів може відігравати центральну роль у досягненні ключової мети – виробництва принаймні 32% відновлюваної енергії до 2030 року [7]. Така біотехнологічна обробка допомагає вирішити проблему поводження з ТПВ та відіграє значну роль у зменшенні викидів парникових газів, сприяючи екологізації енергетичного сектору.

У процесі анаеробного зброджування органічні відходи розкладаються з утворенням метану, вуглекислого газу та води мікроорганізмами в анаеробних умовах. Високий вміст органічної фракції твердих побутових відходів робить їх субстратом, придатним для біометанізації шляхом анаеробного зброджування. Однак жорстка структура лігноцелюлозних матеріалів, які містяться в органічній фракції ТПВ, робить їх складнодоступною для ферментативного гідролізу сировиною. Ліпіди ТПВ можуть сприяти утворенню метану. Однак через гідрофобні властивості ліпіди зазвичай накопичуються біля поверхні зброджуваного шару сировини, що зменшує їх доступність для мікроорганізмів. Через накопичення ліпідів може відбуватися підкислення субстрату, що сповільнює швидкість метаногенезу [8].

Для досягнення більшого виходу метану та скорочення загального часу біоконверсії ефективною є попередня обробка сировини для покращення характеристик субстрату та гідролізу складних біополімерів. Механічні, термічні, хімічні, електричні та біологічні методи попередньої обробки сировини можуть підвищити ефективність виробництва метану. Розглянемо детальніше три методи обробки сировини: мікрохвильове нагрівання та обробку пероксидом водню з мікрохвильовим нагріванням, механічну обробку та хімічну обробку з використанням лугу.

Метою нашої роботи було дослідження збільшення виходу метану при анаеробному зброджуванні органічної фракції твердих побутових відходів застосуванням різних методів попередньої обробки.

Матеріали та методи. У роботі використовували три методи обробки сировини: мікрохвильове нагрівання та обробку пероксидом водню з мікрохвильовим нагріванням, механічну обробку та хімічну обробку з використанням лугу. Було порівняно наведені методи за такими характеристиками як відсотковий вихід біогазу та підвищення ХСК у порівнянні з необробленими зразками.

Результати та обговорення. Загалом ефективність обраного методу попередньої обробки сировини перед анаеробним зброджуванням можна визначити за збільшенням виходу метану, а також за значенням ХСК для сировини загалом та рідкої фракції, яка утворюється після обробки. Розглянемо спочатку механічну обробку. Механічна обробка руйнує компактну структуру субстратів, у результаті чого руйнується клітинна стінка органічної фракції ТПВ. Зруйнована клітинна стінка має збільшену площу поверхні, тобто менший розмір частинок полегшує доступ мікроорганізмів до субстрату, що приводить до кращої асиміляції поживних речовин і прискорює анаеробний процес. Є багато методів механічної обробки. Наприклад, обробка ультразвуком, гомогенізація під високим тиском і замочування або мацерація. Встановлено, що обробка ультразвуком органічної фракції ТПВ протягом 30 хвилин не має істотного впливу на вихід біогазу. Однак, збільшення часу до 60 хвилин збільшило вихід біогазу на 21% порівняно з необробленим зразком [9]. Метод подрібнення за допомогою гранулятора приводить до збільшення на 40% солюбілізації ХСК, що приводить до збільшення виробництва біогазу на 28% у порівнянні з необробленими зразками [10].

Метод, що поєднує два способи, мікрохвильове нагрівання в присутності або без присутності пероксиду водню (H_2O_2). Метод мікрохвильового нагрівання використовує здатність об’єктів нагріватися під дією електромагнітного поля. Під час обробки мікрохвильовим випромінюванням у водному розчині створюються як теплові, так і нетеплові впливи, що спричиняють зміну структури органічної фракції ТПВ та сприяють їх подрібненню та розчиненню компонентів ТПВ. Електромагнітне поле розриває кристалічні структури та змінює суператомну структуру лігноцелюлозних матеріалів, підвищуючи їх реакційну здатність. У дослідженні [11] найбільшого розчинення відходів було досягнуто за двох умов: мікрохвильового нагрівання за температури 175 ºС і мікрохвильового нагрівання при температурі 85 ºС з додаванням H_2O_2. Попередня обробка мікрохвильовим

нагріванням привела до підвищення ХСК у 1,44 рази у разі додавання додаткової води в кількості 20 % (SWA20) та у 1,52 рази у разі додавання додаткової води 30 % (SWA30) порівняно з контролем, відповідно. Подібне збільшення у 1,35 і 1,67 разів отримано для зразків SWA20 і SWA30 з додаванням H_2O_2 при температурі 85 ºС.

Експерименти проводили шляхом нагрівання зразків за допомогою мікрохвильового випромінювання від кімнатної температури до 115, 145 і 175 °С протягом 40 хв. Для сумісної мікрохвильово-хімічної обробки зразки змішували з H_2O_2 у кількості 0,38 і 0,66 гH_2O_2 /г сухої речовини ТПВ і нагрівали до 85°С. В цілому, вся органічна фракція з ТПВ SWA20, попередньо оброблена за 115 °С або 145 °С, дала найкращі результати по кумулятивному вилученню органічних речовин порівняно з контролем. З іншого боку, попередня обробка за 145 °С і 175 °С була найбільш ефективною, якщо розглядати лише вільну рідку фракцію, що виділяється з цілої органічної фракції ТПВ під час обробки. На основі порівняння з контролем SWA20 був більш перспективним порівняно з SWA30, враховуючи швидкість утворення метану [11].

Остання обробка, яку буде розглянуто, це хімічна. Хімічна обробка використовується для руйнування зв'язків у клітинній стінці рослин за допомогою сильних кислот, лугів або окиснювачів. Обробка лугом вважається кращою хімічною обробкою порівняно з іншими методами обробки. Під час обробки лугом основними реакціями, які відбуваються з субстратом, є сольватація та омилення, що викликає набухання твердих речовин. Внаслідок цього площа поверхні збільшується, і субстрати стають легше доступними для анаеробів. Вчені [12] продемонстрували підвищення ефективності анаеробного розкладання органічної фракції ТПВ після попередньої лужної обробки $Ca(OH)_2$. Додавання 62,0 у кількості $Ca(OH)_2$ моль/дм^3 та тривалість обробки 6 год забезпечило збільшення розчинного ХСК на 11,5% від загального ХСК. Подальше додавання реагенту зумовило зниження рівня розчинення, що автори пояснюють утворенням комплексних нерозчинних сполук. Проте, у цьому самому дослідженні лужна попередня обробка, за найкращих умов, дала змогу отримати вихід метану з попередньо оброблених відходів анаеробного зброджування 0,15 м^3 CH_4 з 1 кг органічної фракції ТПВ, що відповідало 172,0% від контролю.

Висновки. Ефективність, економічність та вплив на навколишнє середовище є ключовими факторами, які необхідно враховувати для вибору стратегії обробки органічної фракції твердих побутових відходів перед анаеробним зброджуванням. Для різних типів і походження біомаси доступні різні типи технологій обробки, включаючи фізичні, механічні, хімічні, біохімічні, термічні та їх комбінації, які спрямовані в основному на руйнування клітинних стінок, зокрема целюлозовмісної компоненти сировини.

Було розглянуто способи попередньої обробки сировини: мікрохвильове нагрівання та обробку пероксидом водню з мікрохвильовим нагріванням, механічну обробку та хімічну обробку з використанням лугу.

Переваги лужної обробки – це низькі капітальні витрати та високий вихід метану, який може досягти значень до 100% вищих, ніж у контролі. Проте, якщо

потрібно переробляти велику кількість відходів, то експлуатаційні витрати у разі застосування цього методу досить високі. Також можливе утворення токсичних речовин.

Переваги мікрохвильового нагрівання: можливість забезпечення стабілізації анаеробного процесу та висока ефективність у покращенні розчинення органічних речовин. Проте, у разі мікрохвильової обробки можливе утворення сполук, які важко розкладаються, що призводить до загального зниження виходу метану. Також, мікрохвильова обробка потребує високих енерговитрат.

Методи механічної обробки, хоча і мають нижчу ефективність руйнування складних біополімерів порівняно з хімічними чи фізико-хімічними, проте підходять для різноманітної за складом сировини та, як правило, не призводять до утворення побічних токсичних продуктів.

Вибір технології попередньої обробки органічної фракції ТПВ має базуватися на загальному складі ТПВ, масштабах виробництва, а також технологічних можливостях підприємства.

Список використаної літератури:

1. Wilson D. C., Velis C. A. Waste management – still a global challenge in the 21st century: An evidence-based call for action. *Waste Management & Research*. 2015. Vol. 33, no. 12. P. 1049–1051. URL: https://doi.org/10.1177/0734242x15616055

2. Kaza, S., Yao, L.C., Bhada-Tata, P., Van Woerden, F. What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050. Washington, DC, USA: World Bank Publications, 2018. ISBN 1-4648-1347-7. URL: http://hdl.handle.net/10986/30317

3. European Environment Agency. Bio-Waste in Europe: Turning Challenges into Opportunities; Publications Office: Luxembourg, 2020. ISBN 978-92-9480-223-1. URL: https://doi.org/10.2800/630938

4. Directive 2008/98/EC of the European Parliament and of The Council of 19 November 2008 on Waste and Repealing Certain Directives; Publications Office of the European Union: Luxembourg, 2008; pp. 3–30.

5. European Union. (2019). Communication from the commission to the European Parliament, the council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions: A Clean Planet for all: A European strategic long-term vision for a prosperous, modern, competitive and climate neutral economy. URL: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=COM%3A2019%3A640%3AFIN

6. IRENA (2020), Global Renewables Outlook: Energy transformation 2050 (Edition: 2020), International Renewable Energy Agency, Abu Dhabi. ISBN 978-92-9260-238-3. URL : www.irena.org/publications

7. Peters, D.; van der Leun, K.; van Tiliburg, J.; Berg, T.; Schimmel, M.; van der Hoorn, I.; Buseman, M.; Staats, M.; Schenkel, M.; Ur Rehaman Mir, G. Gas Decarbonisation Pathways 2020–2050: Gas for Climate; Guidehouse: Utrecht, The Netherlands, 2020.

8. Takdastan A, Movahedian H, Jafarzadeh N, Bina B. The efficiency of anaerobic digesters on microbial quality of sludge in Isfahan and Shahinshahr waterwaste treatment plant. *J. Environ. Health Sci.* 2005;2(1):56–59.

9. Rodriguez, C., Alaswad, A., El-hassan, Z., and Olabi, A. G. Mechanical pretreatment of waste paper for biogas production. *Wast. Manag.* 2017. Vol. 68, P. 157–164. URL: 10.1016/j.wasman.2017.06.040

10. Zhu, J. Y., and Pan, X. J. Woody biomass pretreatment for cellulosic ethanol production: technology and energy consumption evaluation. *Bioresour. Technol*. 2010. Vol. 101, P. 4992–5002. URL: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.007

11. Shahriari, H., Warith, M., Hamoda, M., & Kennedy, K. J. *Anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste combining two pretreatment modalities, high temperature microwave and hydrogen peroxide. Waste Management ,*2012. Vol. 32, no. 1., P. 41–52. URL: https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.08.012

12. López Torres, M., and Espinosa Lloréns Mdel, C. Effect of alkaline pretreatment on anaerobic digestion of solid wastes. Waste Manage. 2008. Vol. 28, P. 2229–2234. URL: https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.10.006

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТОДІВ МОДЕЛЮВАННЯ ВИХОДУ БІОМАСИ МІКРОВОДОРОСТЕЙ

Григор'єв Р.В., Строганов О.О., Кузь О.П.
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
rv.hryhoriev@gmail.com, alexey8k@gmail.com, a.kuz@kpi.ua.

Вступ. Мікроводорості (переважно ціанобактерії) – прокаріотичні, фотосинтетичні організми, які мають високу перспективу стати альтернативним відновлювальним джерелом енергії до нафти та інших відновлювальних джерел, як біоетанол, який виробляють з рослинних культур, які мають вживатися в їжу. Протягом останніх років були зроблені вагомі досягнення як у створенні нових штамів мікроводоростей, так і у побудові й проєктуванні нових моделей фотобіореакторів (скорочено – ФБР), які спрямовані на досягнення високого виходу біомаси мікроводоростей дешевим та екологічним шляхом.

Але, досі існує проблема точного розрахунку виходу біомаси на лабораторному та промисловому масштабах, що ускладнює перевірку надійності та перспективності нових винаходів. Можливим вирішенням цієї проблеми є моделювання процесу росту мікроводоростей, яке базується на теоретичних основах гідродинаміки, термодинаміки, атомної та молекулярної фізики й інших дисциплін [1-5].

Метою цієї роботи є огляд досліджень і методів, розроблених саме для проведення розрахунків для такого масштабування.

Матеріали та методи. У роботі було проведено огляд трьох методів, які створені для розрахунку виходу біомаси мікроводоростей за заданих параметрів. Для визначення їх відмінності та особливості було зроблено порівняльний аналіз, який дав змогу визначити їх обмеження, переваги та недоліки.

Для проведення порівняльного аналізу методів були обрані такі фактори:

1. Тип фотобіореактора.
2. Штам ціанобактерій.
3. Тип метода.
4. Порівняння з дослідами.
5. Особливість методу.

Для нашого дослідження було обрано три методи (табл. 1), оскільки вони дають змогу легко визначити їх відмінності та з’ясувати особливості кожного підходу для розрахунку виходу біомаси.

Результати та обговорення. Нами було проведено порівняльний аналіз обраних методів, результати якого показано у таблиці 1.

Метод, розроблений Alexandra D. Holland та Joseph M. Dragavon [1] (перший метод), дає змогу теоретично розрахувати оптимальний ріст мікроводоростей (або вихід біомаси) за такими характеристиками середовища, як швидкість потоку, концентрація біомаси, необхідна кількість вуглекислого газу й нутрієнтів, інтенсивність світла (для спектра 400-700 нм) та специфічні характеристики штаму мікроводоростей для ФБР пластинчатого типу. Цей метод може використовуватися для багатьох штамів мікроводоростей, але в роботі

більшість обчислень проводили зі штамом ціанобактерій *Dunaliella tertiolecta.* Даний метод не потребує виконання симуляції процесів, розрахунки проводять вручну або з використанням комп'ютера. Порівняння з експериментальними даними відсутнє.

Таблиця 1. Особливості авторських методів розрахунку виходу біомаси мікроводоростей згідно з вибраними факторами.

Фактори порівняння	**Перший метод [1]**	**Другий метод [2]**	**Третій метод [3]**
Тип ФБР:	Пластинчатий	Пластинчатий	Кільцеподібний з внутрішнім освітленням
Штам мікро-водоростей:	*Dunaliella tertiolecta*	*Synechocystis sp. PCC 6803*	*Nannochloropsis salina*
Тип метода:	Системи рівнянь та алгоритми.	Симуляція складної (тривимірної) моделі	Симуляція для спрощеної (двовимірної) моделі.
Порівняння з дослідами:	Відсутні	Результати збігаються (Висока точність)	Результати збігаються (Достатня точність)
Особливість методу:	Комп'ютерна симуляція відсутня.	Необхідно калібрування моделі. Універсальний метод.	Модель розрахована лише на один тип ФБР.
Автори:	*Alexandra D. Holland та Joseph M. Dragavon*	*Nicolò S. Vasile та інші*	*Yuswan Muharam та інші*

У дослідженні Nicolò S. Vasile та інших [2] було побудовано тривимірну модель ФБР у програмі Comsol®, для проведення симуляції з урахуванням неоднорідності середовища, нелінійного поширення світла, гідродинаміки та інших факторів (другий метод). Перевага цього методу полягає у можливості зосередитися на простих для визначення параметрів, таких як кількість вуглекислого газу, інтенсивність джерела світла або швидкість потоку середовища, та залишити обчислення складних процесів системи програмним засобам. Завдяки такому розподілу задач розробка нових систем та ФБР спрощується, що може прискорити розвиток даної технології. Цей метод показує високу точність та правдивість розрахунків, що можна побачити у разі їх порівняння з експериментальними даними. Дослідження проводили на ціанобактеріях штаму *Synechocystis sp. PCC 6803* у пластинчатому ФБР. Недоліком методу може бути потреба у коштовному комп'ютерному обладнанні, яке складно отримати бюджетним проєктам.

Yuswan Muharam та інші [3] розробили двовимірну модель кільцеподібного ФБР з внутрішнім освітленням (рис. 1), в який поступає суміш газів (азот (N_2) та вуглекислий газ (CO_2)) з певною швидкістю (третій метод). З метою визначення залежності швидкості потоку вуглекислого газу та його відповідної концентрації у потоці від росту мікроводоростей інші параметри залишаються сталими. Після

проведення симуляцій та дослідів за заданих умов, дослідники дійшли висновку, що результати проведених симуляцій збігаються з експериментальними даними, похибка складає від 4% до 5%. Вчені визначили, що швидкість потоку майже не впливає на ріст мікроводоростей. У дослідженні використовували ціанобактерії штаму *Nannochloropsis salina*. Особливо корисним метод може буде для роботи з мікроводоростями в ФБР саме такого типу в лабораторних масштабах, в промислових масштабах метод не практичний.

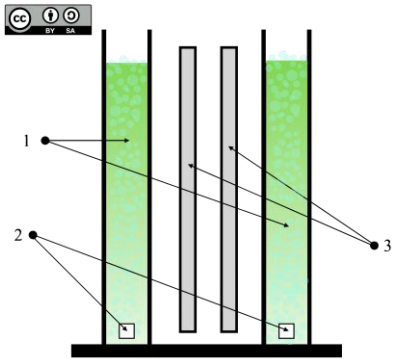


Рис. 1. Зображення поперечного перерізу кільцеподібного ФБР: 1 – середовище культури мікроводоростей; 2 – місця виходу потоку газу (суміш N_2 та CO_2); 3 – джерела світла. (Наведене зображення було зроблене за допомогою матеріалу Muharam Y. та інших [3])

Висновки. У даній роботі було проведено порівняльний аналіз трьох методів моделювання виходу біомаси, визначено їх особливості, переваги та недоліки.

Зазначимо, що дані методи більше зосереджені для проведення розрахунків у лабораторіях, адже вони використовуються для дослідження систем, що знаходяться на етапі вдосконалення ФБР та штамів мікроводоростей, але, в загальному випадку, такі методи мають потенціал для подальшого застосування в майбутніх проєктах більшого масштабу.

Список використаної літератури:

1. Holland A. D., Dragavon J. M. Algal reactor design based on comprehensive modeling of light and mixing. Algal Biorefineries: Cultivation of Cells and Products. 2014. Vol. 1, P. 25-68.

2. Vasile N. S., Cordara A., Usai G., Re A. Computational analysis of dynamic light exposure of unicellular algal cells in a flat-panel photobioreactor to support light-induced CO2 bioprocess development. Frontiers in Microbiology. 2021. No 12. P. 639482.

3. Muharam Y., Pramadana A. B., Wirya A. S. Modelling and simulation of a bubble column photobioreactor for the cultivation of microalgae Nannochloropsis salina. Chemical Engineering Transactions. 2017. No 56. P. 1555-1560.

4. Luzi G., McHardy C. Modeling and Simulation of Photobioreactors with Computational Fluid Dynamics — A Comprehensive Review. Energies. 2022; 15(11):3966.

5. Mink A., et al. Comprehensive Computational Model for Coupled Fluid Flow, Mass Transfer, and Light Supply in Tubular Photobioreactors Equipped with Glass Sponges. Energies. 2022; 15(20):7671.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПОСТІЙНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ ТА НАНОЧАСТИНОК МАГНЕТИТУ НА ПРОРОЩУВАННЯ НАСІННЯ ТА РІСТ РОСЛИНИ ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ *TRITICUM DURUM*

Гудзовський А.О., Дем'яненко І.В.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, lalarusada@gmail.com

Вступ. Унаслідок розвитку сільського господарства людство досягнуло значного поліпшення рівня життя. Проте, однією з найгостріших проблем, яка особливо актуалізувалася на початку XXI століття, є продовольча безпека.

З метою модернізації підходів до ведення сільського господарства постає необхідність удосконалення усталених методів удобрення та використання принципово нових добрив. Наприклад, показано, що додавання в ґрунт наночастинок магнетиту сприяє підвищенню вмісту хлорофілу та ефірних олій [1], загального вмісту вуглеводів [2], швидкості росту та дозріванню насіння [3], а також зростанню маси сухої речовини, висоти рослини та навіть кількості листя [4]. Доведено, що додавання наночастинок сповільнює гальмування росту та активує захисні механізми рослин, що були схильні до впливу важких металів [5].

Також одним з економічно вигідних методів є використання магнітного поля, яке сприяє підвищенню врожайності [6], зміні біохімічних показників, зменшенню захворюваності рослин [7].

Завдяки використанню таких методів передпосівної обробки насіння можливо сприяти вирішенню проблеми голоду в країнах, що розвиваються. Адже застосування магнітного поля чи наночастинок не вимагає багатомільйонних вкладень і при цьому може мати позитивний вплив на врожаї.

Метою даного дослідження є визначення оптимального часу впливу постійного магнітного поля індукцією 30 млТл та концентрації розчину наночастинок магнетиту на пророщування насіння та ріст рослини пшениці твердої *Triticum durum.*

Матеріали та методи. В роботі провели дослідження впливу обох факторів окремо. Для постановки експерименту з магнітним полем обрали такі часові параметри: оброблення насіння протягом 1 хв, 2, хв 3 хв, 4 хв, 5 хв. Вибір часу пов'язаний з можливістю використовувати даний метод під час промислової підготовки посівного матеріалу. Процес пророщування проводили протягом 9 діб, а дослідження морфологічних показників висаджених рослин – протягом 8 тижнів.

Дослідження впливу пророщення насіння рослин у воді з магнітними наночастинками проводили з концентрацією наномагнетиту 0,05 мг/мл, 0,075 мг/мл, 0,1 мг/мл, 1 мг/мл. Вибір саме таких концентрацій пов'язаний з попередніми дослідженнями, що продемонстрували залежність впливу внесення частинок від їх концентрацій [8].

Результати та обговорення. За результатами сходження група насінин, які піддавали впливу магнітного поля індукцією 30 млТл протягом 1 хвилини, мали більшу виживаність (на 35 %) порівняно з контролем. У цьому разі насіння, що оброблювали розчином наночастинок, не відрізнялося від контрольної групи.

За результатами подальшого вирощування у групи рослин, яку на етапі пророщування насіння піддали впливу постійного магнітного поля індукцією 30 млТл протягом 1 хв, спостерігали суттєве збільшення розміру пророслого стебла (на 32 %) порівняно з контролем (рис. 1).

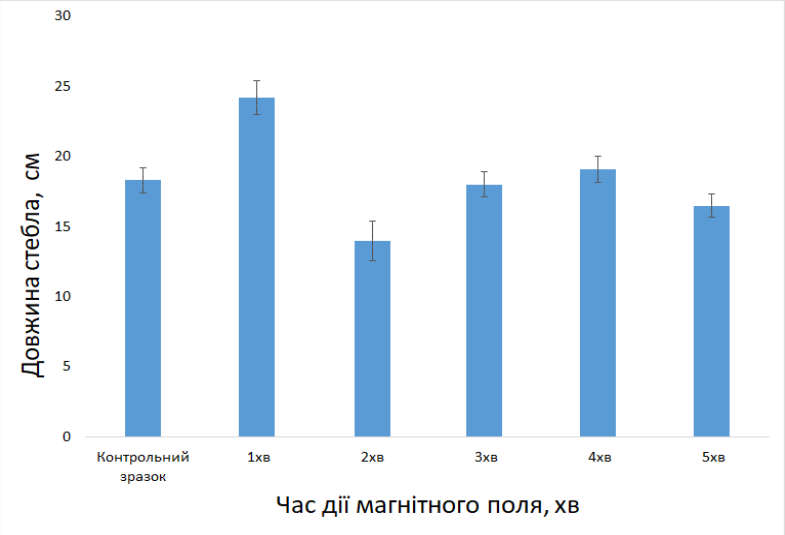


Рис. 1. Вплив часу обробки насіння магнітним полем індукцією 30 млТл на довжину стебла пророслої рослини пшениці *Triticum durum*

Результати замірів кореневої системи всіх досліджуваних груп представлено на діаграмі (рис. 2). Аналізуючи розмір кореня вирощених рослин, у групи рослин, насіння якої піддавали впливу магнітного поля індукцією 30 млТл протягом 1 хв на етапі проростання насіння, спостерігали подовження кореня на 35% відносно контролю. Близькі до цього результати спостерігали і груп рослин, насіння яких на підготовчому етапі опромінювали магнітним полем протягом 3 та 4 хв. В цілому це може свідчити про певний вплив на кореневу систему рослин, але з отриманих даних не можна зробити висновок, чи є цей вплив позитивним, чи негативним.

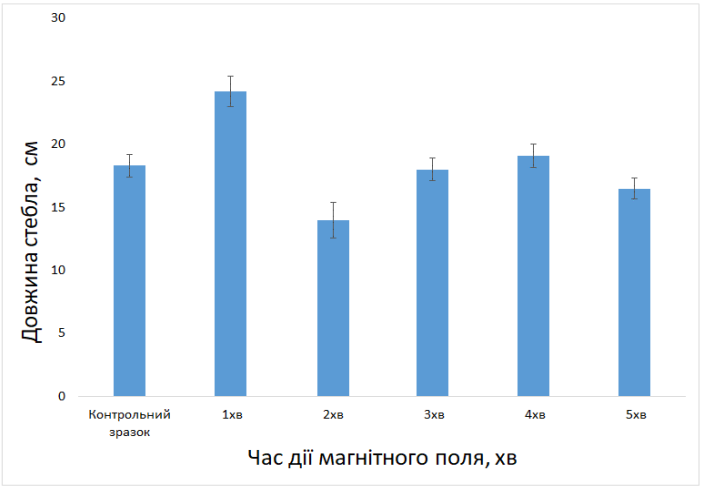


Рис. 2. Вплив часу обробки магнітним полем індукцією 30 млТл на довжину кореня пророщеного насіння

Порівнюючи результати (рис. 3) замірів довжин стебел рослин пшениці досліджуваних груп, насіння яких витримували в розчинах наномагнетиту різної концентрації (до 1 мг/мл), можна зробити висновок про те, що низькі концентрації наночастинок сприяють росту стебел (у межах похибки). На противагу цьому, більша концентрація гальмує ріст стебла, що може вважатись позитивним впливом саме для пшениці. Це може бути пов'язано із біологічною дією катіонів заліза на рослину, яке входить до складу наномагнетиту. Сам механізм ще є предметом дискусії різних дослідників. Для оцінки остаточного значення цього ефекту для пшениці необхідно провести польові випробування та визначити врожайність.

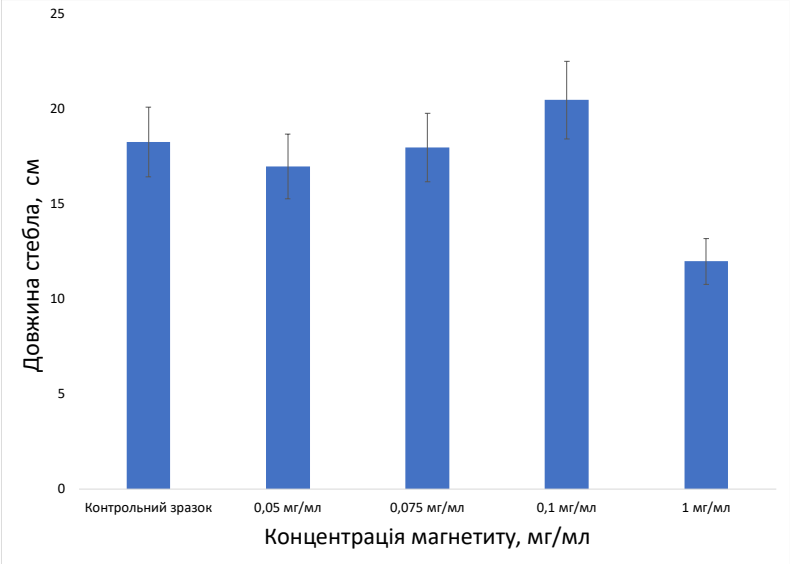


Рис. 3. Вплив концентрації магнетиту на довжину стебла пророщеного насіння

Також спостерігали значне збільшення довжини кореня (на 169 %) порівняно з контролем (рис. 4). Зразки, що обробляли розчином наномагнетиту концентрацією 1 мг/мл, навпаки, мали дещо нижчі показники відносно контролю, що підтверджує негативний вплив на рослини високих концентрацій розчину.

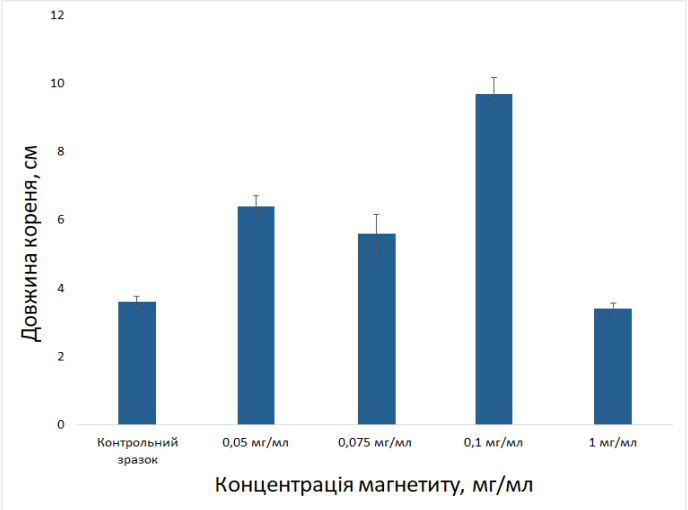


Рис. 4. Вплив концентрацій наномагнетиту, якими обробляли насіння до посіву, на довжину кореня пророщеного насіння

Висновки. В результаті проведеного дослідження було встановлено, що найзначиміший час впливу постійного магнітного поля індукцією 30 млТл на насіння пшениці *Triticum durum* є 1 хвилина. За цих параметрів спостерігали збільшення (на 32%) розміру пророслого стебла порівняно з контролем.

Серед груп рослин, насіння яких пророщували у розчині наночастинок магнетиту, найбільший вплив на морфологічні показники спостерігали за концентрації наномагнетиту 0,1 мг/ мл. У рослин групи розмір пророслого стебла збільшився, в середньому, на 12 %, а довжина кореня – на 169 %.

Проведені дослідження показали, що більш виражений вплив на рослини має додавання наномагнетиту, аніж магнітне поле. Цей вплив залежить від концентрації розчину наномагнетиту, яким оброблюють насінини на етапі допосівної підготовки. Отримані дані щодо впливу магнітного поля на рослини є досить суперечливими і інколи коливаються в межах похибки, тому потребують подальших досліджень та польових випробувань.

Список використаної літератури:

1. Ursache-Oprisan M., Focanici E., Creanga D., Caltun O. Sunflower chlorophyll levels after magnetic nanoparticle supply. African J Biotechnol. 2011. 10:7092–7098. https://doi.org/10.5897/ajb11.477

2. Rui M., Ma C., Hao Y., Guo J., Rui Y., Tang X., Zhao Q., Fan X., Zhang Z., Hou T., Zhu S. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (Arachis hypogaea). Front Plant Sci. 2016. 7:815. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00815

3. Shankramma K., Yallappa S., Shivanna M., Manjanna J. Fe_2O_3 magnetic nanoparticles to enhance S. lycopersicum (tomato) plant growth and their biomineralization. Appl Nanosci 2016. 6:983–990. https://doi.org/10.1007/s13204-015-0510-y

4. Konate A., Wang Y., He X., et al. Comparative effects of nano and bulk-Fe_3O_4 on the growth of cucumber (Cucumis sativus). Ecotoxicology and Environmental Safety. 2018. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.09.053

5. Tamez C., Hernandez R., Parsons J. Removal of Cu (II) and Pb (II) from aqueous solution using engineered iron oxide nanoparticles. Microchem J. 2016. 125:97–104. https://doi.org/10.1016/j. microc.2015.10.028

6. Савченко В., Синявський А. Водопоглинання насіння зернових культур при передпосівній обробці в магнітному полі. Інновації в сільському господарстві. 2017. 89 – 93с.

7. Савченко В., Синявський А. Вплив магнітного поля на дифузію молекул кисню через клітинну мембрану. Енергетика та комп'ютерно-інтегровані технології в АПК. 2014. 31 – 32с.

8. Al-Amri N., Tombuloglu H., Slimani Y., et al. Size effect of iron (III) oxide nanomaterials on the growth, and their uptake and translocation in common wheat (*Triticum aestivum* L.). Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110377

ТОП-ДВАДЦЯТЬ ДИФЕРЕНЦІЙНО ЕКСПРЕСОВАНИХ ГЕНІВ У ПЛАЦЕНТІ ЛЮДИНИ МІЖ ДРУГИМ І ПЕРШИМ ТРИМЕСТРАМИ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ ВАГІТНОСТІ

Жалілова Є.О.[1], Лихенко О.К.[2], Оболенська М.Ю.[2]
[1]КПІ ім.Ігоря Сікорського, evgeniy.jalilova@gmail.com
[2]Інститут молекулярної біології і генетичної інженерії НАН України

Вступ. Плацента – це орган, який розвивається під час вагітності та поєднує організм матері з плодом у триєдину систему – мати – плацента – плод. Порушення функціонування плаценти призводить до різних ускладнень вагітності, таких як затримка росту плоду, передчасні пологи, викидні і смертельно небезпечної для матері і плоду прееклампсії. Перший і другий триместри вагітності є критичними для розвитку дисфункцій плаценти.

Тому з метою виявлення маркерів прееклампсії (найбільш значущої різниці в експресії генів) доцільно проаналізувати диференційно експресовані гени у плаценті людини між першим і другим триместрами фізіологічної вагітності. Для цього було використано метод volcano plot.

Volcano plot – це тип діаграми розсіювання, що об'єднує статистичний показник значущості (p-value), отриманий у результаті статистичного тесту, з величиною кратності зміни (Fold change), який використовують для швидкого виявлення найбільш виражених і найбільш достовірних змін у великих наборах повторюваних даних [1-3]. p-value – ймовірність отримати значення випадкової величини для даної ймовірнісної моделі розподілу. Fold change – це математичне значення, що описує, як кількісно відрізняються дані між собою. Повторювані дані – це дані, які містяться у декількох записах або документах.

Мета роботи – побудувати графік volcano plot і за графіком – визначити диференційно експресовані гени з найбільшим абсолютним значенням lgFC і найменшим значенням p-value для їх подальшого функціонального аналізу.

Матеріали та методи. Дані для побудови volcano plot включають результати порівняльних досліджень експресії генів у плаценті людини між першим та другим триместрами вагітності. Для кожного гена вказаний lgFC (кратність змін) його експресії між другим і першим триместрами і значенням скорегованого p-value з урахуванням поправки на множинну перевірку гіпотез [4]. Розрахували від'ємний логарифм скорегованого p-value у програмі Microsoft Excel. Ці дані були використані для побудови volcano plot.

На основі літературних джерел було розроблено код для програмного забезпечення R [5]. Для побудови volcano plot завантажили і використали пакети з бібліотеки R: ggplot2, readxl, ggrepel: install.packages("ggplot2", "readxl", "ggrepel") [5]. Також у ході роботи розрахували π-value для всіх генів з метою відібрати найбільш значущі диференційно експресовані гени: *full $π.value <- abs(-log10(full $adj.p.val)* full $lgFC).* π-value – оцінка значущості гена, яка об'єднує FC і p-значення в одну оцінку і пропонує новий спосіб ранжування та вибору генів і позначається грецькою літерою π. π-значення – це добуток від'ємного логарифма скорегованого p-value і lgFC [6].

Результати та обговорення. Точки, що позначені синім і червоним кольорами, являють собою значення, що відображають найбільші зміни у значенні кратності lgFC (отже, ліворуч або праворуч від центру) і найвищу статистичну значущість (отже, ближче до вершини) (рис.1.).

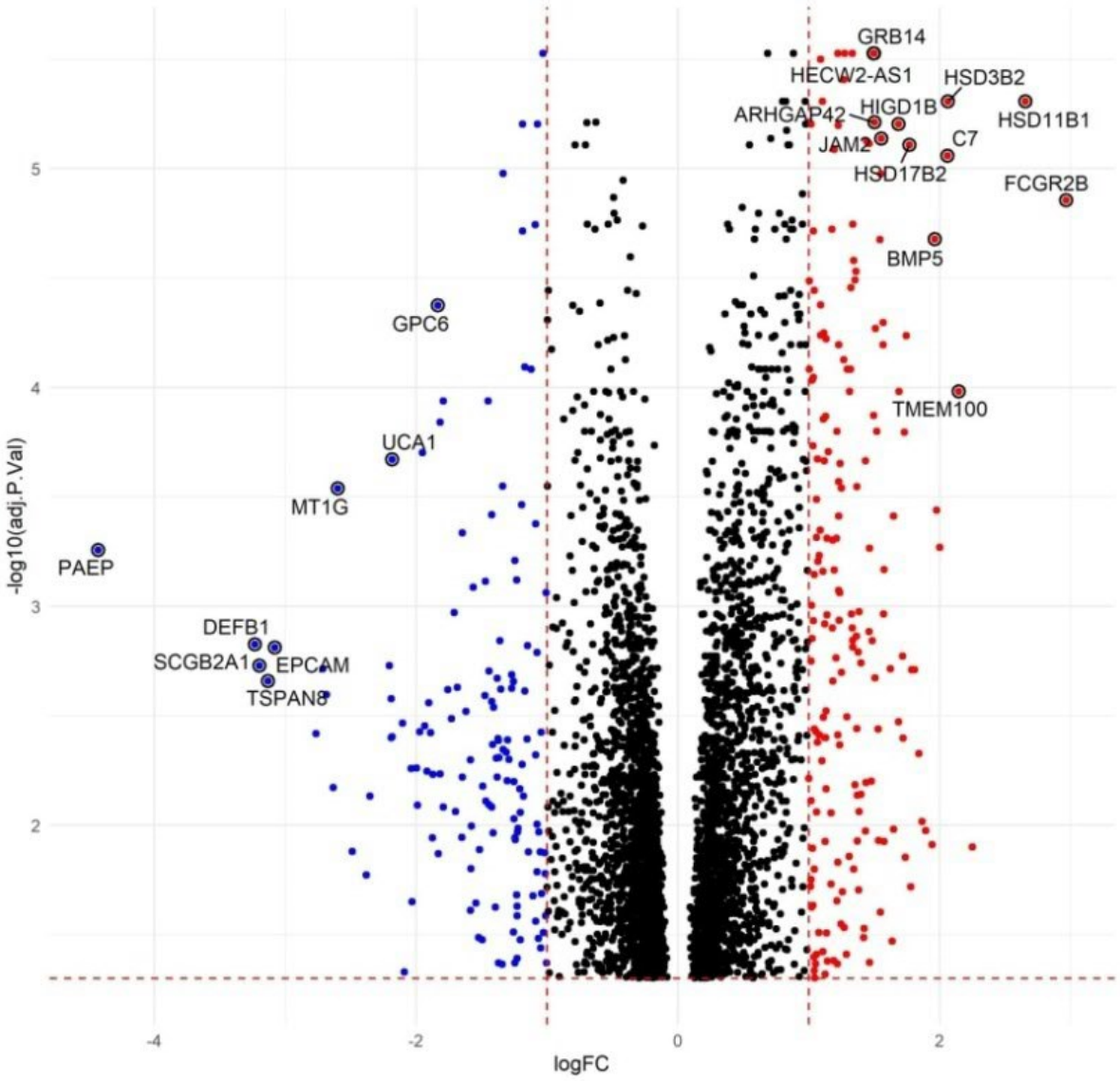


Рис.1 Volcano plot на основі даних про диференційну експресію генів у плаценті людини між першим і другим триместрами вагітності. Вісь x – lgFC, вісь y – (-log(скорегованого p-value)); підписані точки – найбільш значущі диференційно експресовані гени.

В результаті побудови volcano plot було виявлено 20 генів з найбільшим абсолютним значенням lgFC і -log(скорегованого p-value), за якими відрізняються плаценти другого і першого триместрів фізіологічної вагітності (табл.1).

Таблиця 1. Найбільш значущі диференційно експресовані гени між 1 та 2 триместрами вагітності. –log(adj.p-value)>0.05, |lgFC|>1

SYMBOL	lgFC	p-value	adj.p-val	-log(adj.p-val)	π-value	1 Trim. Average	2 Trim. Average
FCGR2B	2,9657654	3,0351E-08	1,3976E-05	4,854622245	14,39767081	5,976413251	8,942178677
HSD11B1	2,6555847	3,5506E-09	4,9362E-06	5,306608407	14,09214816	5,146099813	7,801684525
TMEM100	2,1482081	8,3848E-07	0,00010456	3,9806228	8,551206133	5,022407135	7,170615233
HSD3B2	2,0619921	2,8687E-09	4,9362E-06	5,306608407	10,94218475	4,390712316	6,452704443
C7	2,0594369	1,6424E-08	8,757E-06	5,057643463	10,41589781	5,908563815	7,96800076
BMP5	1,9622549	7,226E-08	2,1079E-05	4,676142059	9,175782543	6,359848811	8,322103684
HSD17B2	1,7692687	1,3835E-08	7,7958E-06	5,108137915	9,037668715	8,243213052	10,01248179
HIGD1B	1,6870528	6,9634E-09	6,2549E-06	5,203782584	8,779056038	4,750243269	6,43729608
JAM2	1,5564266	9,7111E-09	7,2865E-06	5,137478944	7,996108842	6,180827669	7,737254261
ARHGAP42	1,5028579	5,4741E-09	6,1617E-06	5,210298846	7,830338818	4,687741411	6,190599317
GRB14	1,5004436	5,5365E-10	2,9841E-06	5,525189393	8,290234855	3,363132425	4,863575988
HECW2-AS1	1,4961308	1,0539E-09	2,9841E-06	5,525189393	8,266405878	2,404174793	3,900305566
GPC6	-1,8322594	1,9436E-07	4,2272E-05	4,373950664	8,014212302	5,774187522	3,941928103
UCA1	-2,180902	2,6322E-06	0,00021285	3,671933787	8,008127813	8,563952473	6,383050453
MT1G	-2,5976813	4,2089E-06	0,00029005	3,537534317	9,189386904	9,481021839	6,883340494
EPCAM	-3,0775269	5,3628E-05	0,00154561	2,810899262	8,650617957	6,933513547	3,855986695
TSPAN8	-3,129142	8,9696E-05	0,0021922	2,659120684	8,320766146	6,144045022	3,014903049
SCGB2A1	-3,1968019	6,9623E-05	0,00186345	2,729682052	8,726252892	5,872264668	2,675462723
DEFB1	-3,2314056	5,03E-05	0,00148986	2,826855792	9,134717707	7,641662289	4,410256664
PAEP	-4,4274681	1,1288E-05	0,00055378	3,256659661	14,41875689	10,75052577	6,323057634

Примітка. lgFC –логарифм кратності змін гена, p-value – ймовірність отримати значення випадкової величини, adj.p-val – скореговане значення p-value з урахуванням поправки на множинну перевірку гіпотез, -log(adj.p-val) – від'ємний десятковий логарифм скорегованого p-value, π-value – оцінка значущості гена, яка об'єднує FC і p-значення в одну оцінку, 1 та 2 Trim. Average – середні значення логарифмованої матриці експресії генів у першому та другому триместрах.

За допомогою набору інструментів String-db (functional protein association networks) було знайдено асоціації білків та проаналізовано функції генів.

Висновки. 1. Метод volcano plot дав змогу виявити гени з найбільш значущими змінами в експресії у плаценті між другим і першим триместрами вагітності і забезпечив швидкість виявлення і його наочність.

2. Набір інструментів String-db дав змогу проаналізувати функції та взаємозв'язок між білками, що кодуються отриманими генами. Далі (+) та (-) позначено підвищення або зниження експресії гена між першим та другим триместрами фізіологічної вагітності.

- Гени, пов'язані з обміном стероїдів: (+)HSD11B1, (+)HSD17B2.
- Гени, пов'язані з регулюванням росту та розвитку: (+)BMP5, (-)MT1G, (+)GRB14, (-)GPC6.
- Гени, пов'язані зі структурою клітинної мембрани: (-)EPCAM, (+)TMEM100, (-)TSPAN8.
- Гени, що відіграють різні функції: (-)PAEP, (+)HIGD1B, (+)HECW2-AS1.

Список використаної літератури:

1. Li W. Volcano plots in analyzing differential expressions with mRNA microarrays. J Bioinform Comput Biol. 2012 Dec;10(6):1231003. doi: 10.1142/S0219720012310038
2. Li W, Freudenberg J, Suh YJ, Yang Y. Using volcano plots and regularized-chi statistics in genetic association studies. Comput Biol Chem. 2014 Feb; 48:77-83. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2013.02.003
3. Rahmatallah Y, Emmert-Streib F, Glazko G. Gene set analysis approaches for RNA-seq data: performance evaluation and application guideline. Brief Bioinform. 2016 May;17(3):393-407. doi: 10.1093/bib/bbv069
4. Lykhenko O. K., Frolova A. O., Obolenskaya M. Yu. Changes in the human placental transcriptome during the physiological course of pregnancy. Biopolym. Cell. 2021 Feb;37(1):73-82. doi:10.7124/bc.000A4D
5. GitHub - hbctraining/Training-modules: Materials for short, half-day workshops. GitHub. URL: https://github.com/hbctraining/Training-modules
6. Xiao Y, Hsiao TH, Suresh U, et al. A novel significance score for gene selection and ranking. Bioinformatics. 2014;30(6):801-807. doi:10.1093/bioinformatics/btr671

РОЗРАХУНОК ОПТИМАЛЬНИХ ПАРАМЕТРІВ БІОЛОГІЧНОГО ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД НА ОСНОВІ ПРОГРАМИ GPS-X

Кириченко К.С., Саблій Л.А.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, kyrychenko.kyryll@lll.kpi.ua

Вступ. У реаліях, які диктують умови обмеженості в часі та фінансах, інженер часто звертається до використання математичних моделей для подальшого визначення можливого простору проєктування. Він може розробити емпіричні моделі, які включають статистичний підхід для імітації кінцевих результатів, отриманих у дослідженнях фізичної моделі. Ці імітаційні моделі є більш гнучкими, тому що вони дають змогу екстраполювати модель на умови, що виходять за межі тих, які досліджують на пілотній установці. Таким чином, багато потенційних рішень з вибору технологій очищення стічних вод можна оцінити швидко та недорого, що дає змогу вибрати лише найбільш перспективні для фактичного тестування на фізичній моделі.

Історія використання математичних моделей для проєктування станцій очищення стічних вод почалася в 1982 році зі створення першої моделі для проєктування очисної станції (ASM1) робочою групою IAWQ (Міжнародної асоціації з дослідження та контролю забруднення води). Ця модель складається зі стехіометричних і кінетичних виразів, які описують біохімічні перетворення розчинних і нерозчинних (колоїдних, дрібнодисперсних) забруднюючих речовин мікроорганізмами активного мулу, а саме, процеси вуглецевого окиснення, нітрифікації та денітрифікації. Перетворення, описані ASM1, включають аеробний ріст гетеротрофів і автотрофів, безкисневий ріст гетеротрофів, процеси деструкції забруднюючих речовин як для гетеротрофів, так і для автотрофів і гідроліз розчинної біологічно деградабельної фракції ХСК і органічних сполук азоту [1].

У 1995 році з'явилася модель ASM2, яка включає поглиблене біологічне видалення фосфору. Основні доповнення до ASM2 включають визнання частини гетеротрофів як фосфоракумулюючих організмів (ФАО), які поглинають джерела ферментованого вуглецю, такі як леткі жирні кислоти (ЛЖК), і зберігають їх як полігідроксиалканоати (ПГА). ASM2 не включає одночасне видалення сполук фосфору та денітрифікацію за участі ФАО. Цей факт дав змогу створити розширену версію, відому як ASM2d, у 1999 році, яка відображає біологічне видалення фосфоровмісних сполук у процесі денітрифікації, а також безкисневий ріст ФАО [2].

У 1998 році група з IAWPRC розробила модель ASM3, яку було представлено для усунення недоліків ASM1. Модель ASM3 припускає, що всі органічні речовини за ХСК, які біологічно легко розкладаються, спочатку поглинаються та зберігаються бактеріями внутрішньоклітинно, що веде до зростання біомаси. Було також замінено модель "ріст-розпад" на модель "ріст-ендогенне дихання", що полегшило розрахунок швидкості ендогенного розпаду на основі респірометрії [3].

Модель Mantis компанії Hydromantis, яка розробила програмне забезпечення для моделювання GPS-X, є адаптацією ASM1, яка включає такі модифікації: два додаткові процеси росту, один стосується автотрофних організмів, а інший – гетеротрофних, обидва відбуваються за низького вмісту амонійного азоту та високого вмісту нітратів. Кінетичні параметри вважають залежними від температури. Також було введено аеробну денітрифікацію. Mantis

2 є останньою моделлю, яка містить велику кількість інформації, опублікованої в літературі за останнє десятиліття, а саме, процеси очищення, такі як осадження струвіту або анамокс (для видалення сполук азоту) та інші процеси [4].

Усі моделі, згадані раніше, в основному, застосовують для міських систем водовідведення, але їх можна легко адаптувати до конкретних ситуацій, наприклад, до наявності промислових стічних вод. Зокрема, моделі ASM було використано в різноманітних комерційних програмних забезпеченнях для моделювання біологічних процесів, таких як EFOR (DHI), Simulink, BioWin (EnviroSim Associates Ltd., Канада), SIMBA (програми моделювання для біологічних процесів, SKion Water Inc., Німеччина), STOAT (оптимізація та аналіз очищення стічних вод у часі, Великобританія), WEST (двигуни очисних споруд для моделювання та навчання, Бельгія) та GPS-X (Hydromantis Inc., Канада) [5].

Метою дослідницької роботи є аналіз практичних моделей для їх використання у проєктуванні та експлуатації технологій біологічного очищення стічних вод.

Матеріали та методи. У ході роботи використовували програмне забезпечення GPS-X (v8.0, Hydromantis Environmental Software Solutions, Inc., Hamilton, ON, Canada). У ході симуляції програма використовує метод Рунге–Кутта–Фельберга (або метод Фельберга) – алгоритм для чисельного розв’язування звичайних диференціальних рівнянь.

Результати та обговорення. Програмне забезпечення GPS-X дає змогу вирішувати такі задачі на основі динамічного аналізу та аналізу Монте-Карло:

1) Динамічний аналіз:

Умова: необхідно визначити чутливість нітрифікації до температури стічної води у разі синусоїдальної витрати стічних вод на вході в аеротенк-нітрифікатор.

Обговорення: динамічний аналіз дає змогу задавати часовий інтервал (наприклад, 5 діб), у якому програма буде постійно розраховувати параметри системи.

Результат: з графіка, наведеного на рис. 1 [4], можна сформулювати такі висновки:

• нітрифікація відбувається краще за більш високої температури.

• концентрація амонійного азоту на виході з аеротенка-нітрифікатора з часом зазнає зміни внаслідок синусоїдальних коливань витрат стічних вод на вході в очисну споруду.

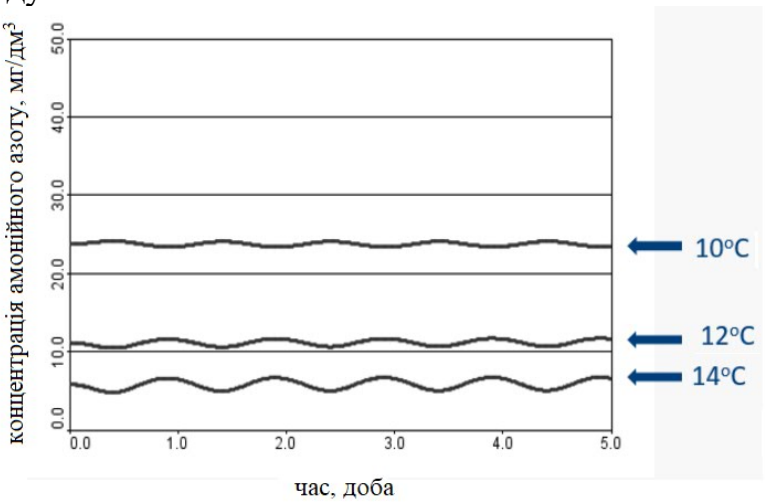


Рис. 1. Залежність концентрації амонійного азоту на виході з аеротенка-нітрифікатора від тривалості роботи споруди за різних температур стічних вод [4]

2) Аналіз Монте-Карло:

Умова: необхідно визначити діапазон концентрацій амонійного азоту в очищених стічних водах за невідомої фактичної швидкості росту бактерій-нітрифікаторів.

Обговорення: аналіз Монте-Карло дає змогу знаходити вірогідність набуття системою тих чи інших значень параметрів. В ході розрахунків інженер встановлює граничну межу параметра, який він досліджує (для даної задачі нехай концентрація амонійного азоту в очищених стічних водах повинна становити 3 мг/дм^3). На основі алгоритму програма підбирає різні коефіцієнти для швидкості росту нітрифікаторів і в результаті розраховує вірогідність очищення стічних вод за амонійним азотом з необхідною ефективністю.

Результат: з рис. 2 [4], видно, що вірогідність очищення стічних вод за амонійним азотом нижче установленої межі, а саме, 3 мг/дм^3, складає 88,3 %, у той час як вищі значення – 11,7%.

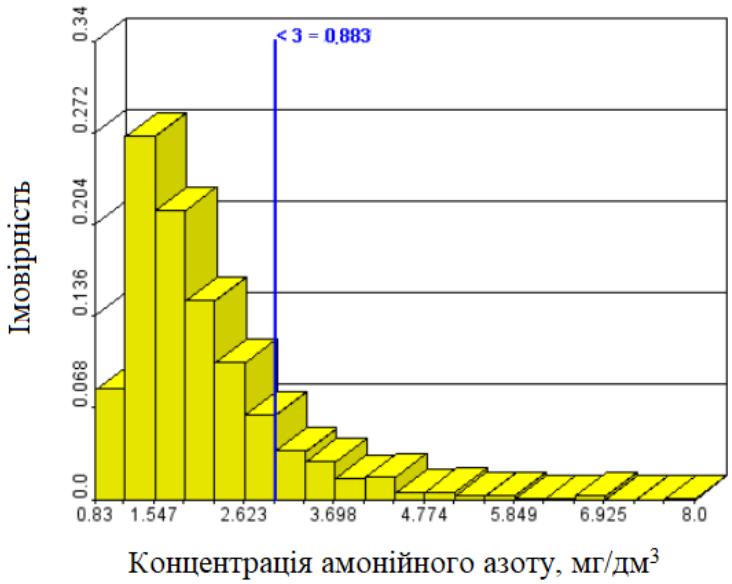


Рис. 2. Імовірність очищення за амонійним азотом залежно від його концентрації в очищеній стічній воді [4]

Висновки. У даній роботі було розглянуто історію розвитку математичних моделей. Було проаналізовано модель Mantis та висвітлено задачі, які ця модель допомагає розв’язати.

Використання програмного забезпечення GPS-X на основі вищезгаданої моделі дає змогу інженеру-проєктанту визначати технологічні параметри та показники вихідних концентрацій забруднюючих речовин. Також інженер може оптимізувати отримані технологічні параметри з метою зменшення експлуатаційних витрат (наприклад, витрата енергії на роботу насосів чи повітродувок).

Список використаної літератури:

1. Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2D, ASM3 / M. Henze et al. 2000. Vol. 5. URL: 10.2166/9781780402369.

2. Activated Sludge Model No.2d, ASM2d. Water Science and Technology. 1999. Vol. 39, no. 1. URL: https://doi.org/10.1016/s0273-1223(98)00829-4.

3. Limitations of ASM1 and ASM3: a comparison based on batch oxygen uptake rate profiles from different full-scale wastewater treatment plants / A. Guisasola et al. Water Science and Technology. 2005. Vol. 52, no. 10-11. P. 69–77. URL: https://doi.org/10.2166/wst.2005.0680.

4. GPS-X Technical Reference - v8.0. URL: https://www.hydromantis.com/help/GPS-X/docs/8.0/Technical/index.html (дата звернення: 28.04.2023).

5. Pombo S. C. Contributo para a utilização de Modelos de Simulação Dinâmica no Dimensionamento de Processos de Lamas Activadas : магістерська дисертація. Lisboa, 2010.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ЗАВОДІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ВОДНИХ РОСЛИН

Кіка Л.С., Саблій Л.А.
Національний технічний університет України "Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського", kika.lyuba@gmail.com

Вступ. Стічні води, що утворюються на фармацевтичних заводах, є потужним джерелом різноманітних забруднень. Одними з найбільш небезпечних є антибіотики. Такі лікарські засоби породжують резистентність бактерій до дії вищезгаданих препаратів, що ставить під загрозу ефективне лікування будь-яких інфекційних захворювань. До того ж, після вживання антибіотики не повністю метаболізуються в організмі людини, і більша частина їх виводиться назовні. Ці біологічно активні сполуки потрапляють у стічні води. Методи очищення, що застосовують на очисних спорудах міста, не видаляють все навантаження антибіотиків. Тому проблема розробки нових, вдосконалення існуючих та впровадження ефективних методів і технологій очищення стічних вод фармацевтичних підприємств є надзвичайно актуальною.

Метою роботи є аналіз літературних даних щодо ефективності використання методів очищення стічних вод фармацевтичних підприємств від лікарських засобів за допомогою водних рослин.

Матеріали та методи. Під час розгляду методів очищення стічних вод фармацевтичних заводів було використано аналітичний метод дослідження.

Результати та обговорення. Однією із найбільш ефективних рослин, які здатні видаляти із стічних вод різноманітні забруднювачі, є ряска. Це невеликі зелені плаваючі вищі водні рослини родини *Lemnaceae*, яка складається з п’яти родів: *Landoltia*, *Lemna*, *Spirodella*, *Wolffia* та *Wolffiella* [1]. Ряска має великий потенціал до поглинання забруднювальних речовин, що робить її використання для очищення стічних вод ефективним, дешевим та екологічним.

Результати [2] показують ефективність методу очищення стічних вод, забруднених антибіотиками, з використанням поширеної у всьому світі ряски *Lemna aoukikusa*. Експериментальні результати показали, що ряска може зростати у стічних водах, які містять антибіотики – ципрофлоксацин і сульфаметоксазол, і одночасно адсорбувати ці антибіотики з водного розчину навіть у високих концентраціях. Так, початкова концентрація антибіотиків $5{,}0 \cdot 10^{-2}$ моль·м$^{-3}$ представляла випадок найбільшого забруднення стічних вод.

Досліджено [3] видалення ципрофлоксацину (CIP) із водних розчинів методом адсорбції за допомогою активованого вугілля, виготовленого з водяної папороті *Azolla filiculoides* (AFAC) – плаваючої на поверхні води рослини з дуже швидким ростом, найбільш крупної з роду *Azolla*. Результати показали, що за вмісту CIP 10 мг/дм^3, дози AFAC 2,5 г/дм^3, тривалості контакту 75 хв, видалення CIP становило 99,1%. Таким чином, було доведено, що AFAC може бути використаний для ефективного видалення антибіотиків зі стічних вод.

Результати досліджень ефективності очищення води від антибіотика одного виду або від антибіотиків різних видів у випадку їх сукупної дії за концентрацій

амоксициліну 2 мкг/дм^3, енрофлоксацину 2 мкг/дм^3 і окситетрацикліну 1 мкг/дм^3 на водний макрофіт *Lemna minor* [4] свідчать, що ця рослина може накопичувати значні концентрації даних лікарських засобів із водного середовища. Отже, це вказує на можливість використання таких водних рослин для фіторемедіації природних водойм, забруднених вказаними вище антибіотиками.

У ході дослідження [5] було оцінено потенційну токсичність амоксициліну на ряску *Spirodela polyrhiza* (спіродела багатокоренева, найбільший вид роду Ряска, багаторічна рослина, що плаває на поверхні води та має коріння, сформоване у вигляді пучків) під час дії протягом 7 діб. На ряску було здійснено вплив амоксициліну низькими 0,0001-0,01 мг/дм^3 та високими 0,1-1 мг/дм^3 концентраціями. Результати свідчать про токсичну дію антибіотика на *Spirodela polyrhiza* навіть за низьких концентрацій, але, незважаючи на це, ряска безпосередньо сприяла деградації антибіотиків у воді протягом усього процесу фіторемедіації.

Дослідження [6] дало змогу вивчити вплив стрептоміцину на фізіологічні зміни та здатність до поглинання ряски *Lemna aequinoctialis* (ряска тропічна, це єдиний вид роду Ряска, що вважається однорічним) після впливу антибіотика протягом різної тривалості дії: 0, 5, 10, 15 та 20 діб. Ряску піддавали впливу стрептоміцину в діапазоні концентрацій 0,1-10 ммоль/дм^3. Результати показали, що високі концентрації стрептоміцину понад 1 ммоль/дм^3 призводили до зниження біомаси ряски на 21,5-41,5%. Значне зниження вмісту стрептоміцину – 72-82%, через 20 діб порівняно з контролем – 40-55%, (без ряски) показало, що ряска має високу здатність видаляти стрептоміцин. Таким чином, результати вказують на те, що ряска може сприяти розкладанню стрептоміцину і може бути використана для очищення стічних вод.

Було досліджено [7] потенціал ветивера *Chrysopogon zizanioides*, багаторічної трави, яка швидко зростає, здатна рости на гідропоніці та має довге коріння, що досягає до 4 метрів в довжину та росте вертикально, для видалення двох поширених у використанні антибіотиків – ципрофлоксацину і тетрацикліну, зі стічних вод. Значне видалення антибіотиків та біогенних речовин (сполук N та P) травою ветивера зі стічних вод спостерігали протягом 30 днів. Трава ветивера видаляла понад 90% антибіотиків зі стічних вод. Крім антибіотиків, ветивер також видаляв із стічних вод нітрати (>40%), фосфати (> 60%), загальний органічний вуглець (>50%) та знижував хімічне споживання кисню (ХСК) на величину понад 40%.

Для видалення антибіотиків застосовували різні методи, включаючи фіторемедіацію плаваючими водними видами, такими як ряска та водяна папороть, з позитивними результатами [8]. У цьому дослідженні проаналізовано інформацію про ефективність видалення лікарських засобів з акцентом на антибіотики за допомогою *Lemna* та *Azolla*, що дасть змогу краще зрозуміти процеси фіторемедіації з точки зору фізіології рослин. Також проаналізовано фізіологічні процеси макрофітів у середовищі з цим видом забруднювача та його фітотоксичну дію на рослини за високих концентрацій. Метаболізм токсичних сполук починається з абсорбції антибіотиків та завершується зберіганням

асимільованих сполук у вакуолях, апопласті та клітинній стінці. Отже, рослини сприяють видаленню токсичних сполук з води.

Висновки. Аналіз методів і технологій очищення стічних вод від антибіотиків з використанням ряду рослин: водних, таких як рясок *Lemna aoukikusa, Lemna minor, Spirodela polyrhiza, Lemna aequinoctialis*; трави ветивера *Chrysopogon zizanioides*, показав високу їх ефективність щодо ряду антибіотиків. Проте, велике значення на величину ефективності видалення має тип і початкова концентрація антибіотика у стічних водах. Оскільки перевірка ефективності була виконана для окремих типів антибіотиків та в певних діапазонах їх концентрацій, то використати наведені дані можна тільки в подібних конкретних умовах. Таким чином, технологічний режим очищення стічних вод від певного типу антибіотика або групи антибіотиків з використанням рослин має бути досліджений для складу стічної води того фармацевтичного підприємства, яке розглядається. Тому встановлення закономірностей між технологічними параметрами процесу очищення з використанням водних рослин і складом та показниками стічних вод конкретного фармацевтичного підприємства буде становити завдання подальших наших досліджень.

Список використаної літератури:

1. Zeshan Ali, Hina Waheed, Alvina G. Kazi, Asim Hayat, Mushtaq Ahmad. Chapter 16 – Duckweed: An Efficient Hyperaccumulator of Heavy Metals in Water Bodies. *Plant Metal Interaction, Elsevier*. 2016. P. 411–429. URL: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803158-2.00016-3.

2. Hiroaki Habaki, Nivetha Thyagarajan, Zhuoheng Li, Shuyang Wang, Jack Zhang & Ryuichi Egashira. Removal of antibiotics from pharmaceutical wastewater using *Lemna Aoukikusa* (duckweed). *Separation Science and Technology*. 2023. Vol. 58. P. 1491–1501. URL: https://doi.org/10.1080/01496395.2023.2195544.

3. Balarak. Adsorption of amoxicillin antibiotic from pharmaceutical wastewater by activated carbon prepared from *Azolla filiculoides*. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2017. Vol. 18. P. 1–13. URL: 10.9734/JPRI/2017/35607.

4. Gomes M. P., Moreira Brito J. C., Cristina Rocha D., Navarro-Silva M. A., Juneau P. Individual and combined effects of amoxicillin, enrofloxacin, and oxytetracycline on *Lemna minor* physiology. *Ecotoxicology and Environmental Safety, Elsevier*. 2020. Vol. 203. URL: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111025.

5. Singh V, Pandey B, Suthar S. Phytotoxicity of amoxicillin to the duckweed *Spirodela polyrhiza*: Growth, oxidative stress, biochemical traits and antibiotic degradation. *Chemosphere*. 2018. Vol. 201. P. 492–502. URL: 10.1016/j.chemosphere.2018.03.010.

6. Huang W, Kong R, Chen L, An Y. Physiological responses and antibiotic-degradation capacity of duckweed (*Lemna aequinoctialis*) exposed to streptomycin. *Frontiers in Plant Science*. 2022. Vol. 13. URL: https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1065199.

7. Panja S, Sarkar D, Datta R. Removal of antibiotics and nutrients by Vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides*) from secondary wastewater effluent. *International Journal of Phytoremediation*. 2020. Vol. 22. P. 764–773. URL: https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1710813.

8. Ingrid Maldonado. Application of duckweed (*Lemna* sp.) and water fern (*Azolla* sp.) in the removal of pharmaceutical residues in water: State of art focus on antibiotics. *Science of The Total Environment*. 2022. Vol. 838. URL: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156565.

РЕМЕДІАЦІЯ ҐРУНТІВ, ЩО ВТРАТИЛИ РОДЮЧІСТЬ ВНАСЛІДОК ВІЙСЬКОВИХ ДІЙ

Козар М.Ю.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, kozar.maryna@lll.kpi.ua

Вступ. Один із найбільш гострих соціально-економічних викликів сьогодення полягає в стані природного середовища, який прямо або опосередковано впливає на інтереси кожної людини. Екологічні проблеми є глобальними викликами для всього світу та для кожної держави зокрема.

Сільське господарство відіграє важливу роль для України, яка є аграрною країною з багатими природними ресурсами та плодючими ґрунтами. На цей час сільське господарство є однією з основних галузей економіки України, яка забезпечує значну частину зайнятості населення та виробляє велику частину експортних доходів країни. Сільське господарство забезпечує Україну продуктами харчування, включаючи зернові, м'ясо, молоко та сировину для переробної промисловості. Значна частина сільськогосподарських підприємств є малими та середніми підприємствами, що забезпечують розвиток сільського господарства та розвиток економіки сільських районів. Також сільське господарство може відігравати важливу роль у розвитку туризму та аграрного бізнесу, які є перспективними напрямками розвитку в Україні.

Повномасштабне вторгнення Росії в Україну спричинило руйнівні наслідки не тільки для людей та інфраструктури, але й для навколишнього природнього середовища, порушено ланки природніх процесів, на відновлення яких підуть роки, а деякі процеси змінені безповоротно. Після бойових дій великі ділянки території стають непридатними для ведення сільського господарства. Окрім загрози безпосереднього вибуху через наявні вибухонебезпечні об'єкти додатково спричиняється негативний вплив пролонгованої дії на ґрунти. На стан та якість ґрунтів впливає багато чинників: пересування важкої техніки, використання важкого озброєння, контакт з вибуховими речовинами та вогнем призводять до неминучої загибелі флори і фауни на ділянці під час безпосереднього впливу, ущільнення ґрунтів, порушення процесів газообміну та проникнення вологи, вплив хімічних речовин, які використовуються для озброєння, потрапляння та подальше перетворення паливно мастильних компонентів, металевих предметів та уламків.

Речовини, які потрапляють у ґрунти, негативно впливають на їх якість та здатність до підтримки життя рослин, мікробіоти та тварин. Природна стійкість ґрунтів залежить від різних факторів, таких як вміст гумусу, мінеральний склад, пористість, глибина ґрунту, наявність коренів рослин та інших біологічних складових. Високий вміст гумусу та інших органічних речовин забезпечують вищу природну стійкість, оскільки ці речовини підтримують структуру ґрунту та зберігають вологу.

Проте, багато факторів можуть знижувати природну стійкість ґрунтів, включаючи виснаження ґрунту, вирубку лісів, забруднення та інші антропогенні дії. Тому, збереження та відновлення природної стійкості ґрунтів є важливим завданням з точки зору екології та збереження природних ресурсів.

Під час бойових дій вибухи можуть викликати ерозію ґрунтів, зміну природніх ландшафтів, незворотну втрату родючого шару та всіх живих об'єктів на ділянці, подальший вплив на сусідні території, поверхневі та підземні води забруднюючих речовин.

Мета роботи – аналіз існуючих сучасних технологій відновлення ґрунтів та можливість їх застосування на ділянках, які постраждали, визначення найбільш перспективних методів для подальшого їх застосування на території України.

Матеріали та методи. Аналіз, класифікація та порівняння матеріалів і технологій біоремедіації, які б були високоефективними та доступними. Зіставлення технологій та основних характеристик забруднювачів. Порівняльно-аналітичний метод дав змогу, на прикладі аналізу існуючого світового досвіду та літературних джерел, запропонувати етапи відновлення постраждалих територій, способи влаштування елементів технології, спрогнозувати переваги в області ресурсозбереження та екологізації таких територій.

Результати та обговорення. Необхідно буде на постраждалих ділянках, після розмінування територій та вивезення уламків, які там знаходяться, провести відновлення щільності ґрунту та насичення його киснем. Це допоможе прискорити процеси самовідновлення ґрунту, інтенсифікувати роботу аеробних мікроорганізмів та безпосередню взаємодію кисню повітря із паливно-мастильними та іншими хімічними речовинами. Ущільнення та склеювання родючого шару, за рахунок потрапляння продуктів переробки нафти та інших речовин, зменшує потенційну площу контакту біопрепаратів, унеможливлює використання рослин та ускладнює біоремедіацію. Не існує в світі готового рішення вирішення проблеми, яка насувається, і наразі має прихований характер.

Біоремедіація є ефективним методом очищення ділянок, забруднених різними хімічними речовинами. Пропонуються для подальшого дослідження та вивчення можливості застосування такі основні етапи біоремедіації таких ділянок:

1. Оцінка ступеня забруднення: перед початком робіт необхідно провести детальну оцінку ступеня забруднення території. Це дасть змогу визначити тип забруднення, його масштаб та розповсюдження, що необхідно для планування ефективної стратегії біоремедіації.

2. Видалення небезпечних матеріалів: перед початком біоремедіації необхідно видалити всі небезпечні матеріали з території. Це може включати металеві частинки, боєприпаси та інші матеріали, які можуть становити загрозу для людей та навколишнього середовища.

3. Вибір біоремедіаційних агентів: після видалення небезпечних матеріалів необхідно вибрати оптимальний біоремедіаційний агент для даної території. Це можуть бути бактерії, гриби, водорості, рослини або їх комбінації.

4. Встановлення оптимальних умов: для того, щоб біоремедіація була ефективною, необхідно створити оптимальні умови для розвитку та розмноження мікроорганізмів. Це може включати контроль за pH, температурою, вологістю та наявністю необхідних поживних речовин.

5. Застосування біоремедіаційних агентів: після встановлення оптимальних умов необхідно застосувати обрані біоремедіаційні агенти на території забруднення. Це може бути здійснено за допомогою різних методів, таких як розпилювання біоремедіаційних агентів на поверхню ґрунту або змішування їх з ґрунтом.

6. Моніторинг та оцінка результатів: після застосування біоремедіаційних агентів необхідно здійснювати моніторинг території, щоб оцінити ефективність методу. Це може включати збір зразків ґрунту та води для аналізу на забруднення та визначення кількості мікроорганізмів, що розкладають забруднюючі речовини.

7. Коригування методу: у разі виявлення недоліків в ефективності методу- необхідно коригувати його. Це може включати зміну біоремедіаційних агентів, зміну умов чи методу застосування.

8. Заключна оцінка: після завершення робіт необхідно провести заключну оцінку ефективності біоремедіації. Це дасть змогу визначити, наскільки успішно було очищено територію та наскільки вона готова до подальшого використання.

Висновки. Отже, етапи біоремедіації ділянок після бойових дій включають оцінку ступеня забруднення, видалення небезпечних матеріалів, вибір біоремедіаційних агентів, встановлення оптимальних умов, застосування біоремедіаційних агентів, моніторинг та оцінку результатів, коригування методу та заключну оцінку. Слід розуміти, що це довготривалі процеси які потребують капіталовкладень для інтенсифікації процесів ремедіації, до того ж, це дуже великі ділянки території, які потребують відновлення.

Список використаної літератури:

1. Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances / ed. by M. Alfonso Murillo-Tovar, H. Saldarriaga-Noreña, A. Saeid. IntechOpen, 2021. URL: https://doi.org/10.5772/intechopen.83504

2. New Approaches in Biological Wastewater Treatment Aimed at Removal of Organic Matter and Nutrients / L. Sabliy et al. *Ecological Chemistry and Engineering S*. 2019. Vol. 26, no. 2. P. 331–343. URL: https://doi.org/10.1515/eces-2019-0023

PREDICTING PH IN WATER RESERVOIRS USING MACHINE LEARNING TECHNIQUES: A COMPARATIVE STUDY ON WATER QUALITY INDICES

Kozlovska P., Krzemińska A., Miller T.
University of Szczecin. tymoteusz.miller@usz.edu.pl

Introduction. Water quality monitoring plays a crucial role in maintaining healthy ecosystems and ensuring the safety of water resources for various purposes, such as drinking, agriculture, and industry [1, 2]. One essential aspect of water quality assessment is the measurement of pH, which can provide valuable insights into the overall health of aquatic ecosystems. Accurate pH prediction is necessary for timely intervention and effective management of water resources [3].

In recent years, machine learning techniques have emerged as powerful tools for modeling complex relationships between variables and making accurate predictions [4, 5,6]. The aim of this work was to develop an accurate predictive model for pH using various water quality indices by employing and comparing multiple machine learning techniques, including Generalized Linear Model, Deep Learning, Decision Tree, Random Forest, Gradient Boosted Trees, and Support Vector Machine. The models' performance is assessed using several evaluation metrics, and the most suitable model is identified for predicting pH based on the given water quality indices.

By developing an accurate pH prediction model, this study contributes to the ongoing efforts in environmental monitoring and management, helping stakeholders assess water quality more effectively and identify potential issues in water reservoirs. Furthermore, the findings from this comparative study can inform researchers and practitioners about the performance of different machine learning techniques in predicting pH and guide the selection of appropriate models for various applications in water quality assessment.

Material and methods. Area. Rusalka Lake, a small artificial water reservoir (2.9 ha) located in Kasprowicz Park, Szczecin, is formed by damming the waters of the Osowka and Warszowiec streams. The lake is elongated in shape, with a maximum depth of 1.7 m before sediment dredging and 3.0 m after. Average depth increased from 1.4 m to 2.0 m following dredging. Despite its lake-like appearance, Rusalka Lake's water retention time is approximately 30 days, making it more similar to a stream flood area. The lake is part of Szczecin's municipal storm drainage system, functioning as a storage reservoir, with water drained to the Western Odra River through an underground canal.

Methods. Water samples were collected monthly from January 2015 to December 2022 to analyze various water quality indices. These indices included Chlorophyll a (Chl a), Redox Potential (Eh), Temperature (Temp.), Chemical Oxygen Demand-Manganese (COD-Mn), Chemical Oxygen Demand-Chromium (COD-Cr), Biological Oxygen Demand (BOD), Dissolved Oxygen (DO), Water Saturation (WS), Nitrate (NO3), Nitrite (NO2), Ammonium (NH4), Total Nitrogen (TN), Soluble Reactive Phosphorus (SRP), Total Phosphorus (TP), Total Hardness (TH), Calcium (Ca), Magnesium (Mg), Chloride (Cl), Sulfate (SO4), Iron (Fe), Lead (Pb), Zinc (Zn), Cadmium (Cd), and Copper (Cu). The analysis followed the guidelines established by the American Public Health Association (APHA).

We employed various machine learning techniques, including Generalized Linear Model, Deep Learning, Decision Tree, Random Forest, Gradient Boosted Trees, and Support Vector Machine, using Rapid Miner Studio 10.1 with an academic license. To compare the performance of these models, we evaluated them based on several metrics such as Relative Error, Standard Deviation, Gains, Total Time, Training Time (1,000 Rows), Scoring Time, Root Mean Squared Error, Absolute Error, Lenient Relative Error, and Squared Error.

Results and discussion. The performance of different models was evaluated using various metrics. The results were as follows:

Model Performance:

1. Generalized Linear Model: Relative Error = 0.4, Total Time = 6047.0, Training Time (1,000 Rows) = 32.7, Scoring Time = 104.6
2. Deep Learning: Relative Error = 0.2, Total Time = 12145.0, Training Time (1,000 Rows) = 349.8, Scoring Time = 69.9
3. Decision Tree: Relative Error = 0.1, Total Time = 4943.0, Training Time (1,000 Rows) = 12.5, Scoring Time = 39.5
4. Random Forest: Relative Error = 0.3, Total Time = 42637.0, Training Time (1,000 Rows) = 75.2, Scoring Time = 65.7
5. Gradient Boosted Trees: Relative Error = 0.1, Total Time = 130547.0, Training Time (1,000 Rows) = 545.3, Scoring Time = 151.3
6. Support Vector Machine (SVM): Relative Error = 0.1, Total Time = 740183.0, Training Time (1,000 Rows) = 5459.6, Scoring Time = 708.0

Support Vector Machine (Kernel Model) details:

- Total number of Support Vectors: 6007
- Bias (offset): 6.494
- Weight coefficients (w) for each water quality index were provided (table 1).

Table 1. Weight coefficients

w[Chl a] = 95.326	w[SRP] = -1319.678
w[Eh] = -98.492	w[TP] = 260.709
w[Temp.] = -348.134	w[TH] = 1363.217
w[COD-Mn] = -97.776	w[Ca] = -780.814
w[COD-Cr] = -331.585	w[Mg] = 1183.195
w[BOD] = -2.578	w[Cl] = -402.718
w[DO] = 39.341	w[SO4] = 147.365
w[WS] = -234.226	w[Fe] = -440.799
w[NO3] = -812.154	w[Pb] = 41.708
w[NO2] = 244.132	w[Zn] = 191.438
w[NH4] = -753.425	w[Cd] = -685.026
w[TN] = -0.489	w[Cu] = -51.695

Evaluation Metrics:

- Root Mean Squared Error: 0.995 +/- 0.117 (micro average: 1.001 +/- 0.000)
- Absolute Error: 0.635 +/- 0.037 (micro average: 0.635 +/- 0.773)
- Lenient Relative Error: 10.01% +/- 0.29% (micro average: 10.01% +/- 10.38%)
- Squared Error: 1.001 +/- 0.242 (micro average: 1.001 +/- 4.203)
- Correlation: 0.984 +/- 0.004 (micro average: 0.984)

Optimal parameters for SVM (Gamma and C values):

- Best performance was obtained with GAMMA (RBF) = 0.5 and C = 10.0, with a performance score of 0.11497013552915694.

Based on the results, the Decision Tree, Gradient Boosted Trees, and Support Vector Machine models had the lowest relative error (0.1) among the tested models. However, the Support Vector Machine demonstrated the best performance considering the optimal parameters and performance score

However, the Support Vector Machine model, with optimal GAMMA (RBF) = 0.5 and C = 10.0, achieved the best performance score of 0.11497013552915694. This indicates that the Support Vector Machine model is the most accurate and suitable for predicting pH based on the given water quality indices.

The other models, such as the Generalized Linear Model and Deep Learning, had higher relative errors, which implies less accurate predictions. The Random Forest model performed better than the Generalized Linear Model and Deep Learning, but it was not as accurate as the Support Vector Machine.

It is worth noting that the Support Vector Machine model had the longest total time and training time (1,000 rows) among all models. This could be a potential drawback when considering computational efficiency and scalability, especially for large datasets. However, the model's superior predictive performance may justify the trade-off in computational resources.

In conclusion, the Support Vector Machine model, with optimal parameters, demonstrated the best performance in predicting pH based on the water quality indices. This model can potentially be applied in various environmental monitoring and management applications, helping to assess water quality and identify potential issues more effectively. Further research could explore other machine learning techniques or feature selection methods to improve model performance and computational efficiency.

Conclusion. In conclusion, this study aimed to develop an accurate predictive model for pH using various water quality indices. Several machine learning techniques were employed and compared, including Generalized Linear Model, Deep Learning, Decision Tree, Random Forest, Gradient Boosted Trees, and Support Vector Machine. Based on the evaluation metrics, the Support Vector Machine model with optimal parameters (GAMMA (RBF) = 0.5 and C = 10.0) demonstrated the best performance in predicting pH.

Future research could explore other machine learning techniques or feature selection methods to further enhance model performance and computational efficiency. Additionally, the developed models can be tested on other water bodies to validate their generalizability and applicability in different environmental contexts.

References:

1. Gómez-Gutiérrez A, Miralles MJ, Corbella I, García S, Navarro S, Llebaria X. La calidad sanitaria del agua de consumo [Drinking water quality and safety]. Gac Sanit. 2016 Nov;30 Suppl 1:63-68

2. William Schaduw JN. Seawater Quality Analysis in Mantehage Island for Integrated and Sustainable Marine Tourism Development. Pak J Biol Sci. 2021 Jan;24(12):1333-1339.

3. Bundschuh M, Weyers A, Ebeling M, Elsaesser D, Schulz R. Narrow pH Range of Surface Water Bodies Receiving Pesticide Input in Europe. Bull Environ Contam Toxicol. 2016 Jan;96(1):3-8.

4. Zampieri G, Vijayakumar S, Yaneske E, Angione C. Machine and deep learning meet genome-scale metabolic modeling. PLoS Comput Biol. 2019 Jul 11;15(7):e1007084.

5. Manco L, Maffei N, Strolin S, Vichi S, Bottazzi L, Strigari L. Basic of machine learning and deep learning in imaging for medical physicists. Phys Med. 2021 Mar;83:194-205.

6. Puthongkham P, Wirojsaengthong S, Suea-Ngam A. Machine learning and chemometrics for electrochemical sensors: moving forward to the future of analytical chemistry. Analyst. 2021 Oct 25;146(21):6351-6364.

ОТРИМАННЯ ЕЛЕКТРИЧНОГО СТРУМУ В ПОВНИХ МІКРОБНИХ ПАЛИВНИХ ЕЛЕМЕНТАХ ПРИ СОНЯЧНОМУ ОСВІТЛЕННІ

Колтишева Д.С., Щурська К.О., Кузьмінський Є.В.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, dinakoltisheva@gmail.com

Вступ. Повні мікробні паливні елементи (МПЕ) з мікроводоростями – технологія, яка дає змогу одночасно очищувати стічні води та генерувати електричну енергію [1]. Серед основних компонентів повного МПЕ є біокатод та біоанод. Мікроорганізми на біоаноді розкладають органічні речовини з вивільненням електронів і протонів. Електрони через зовнішній ланцюг, а протони через мембрану прямують до біокатода, де поєднуються з фотосинтетично утвореним мікроводоростями киснем, продукуючи воду. Попередні дослідження [1-3] культивування мікроводоростей в МПЕ проводили із застосуванням штучних джерел освітлення, однак таке технологічне рішення зменшує кінцевий вихід електричної енергії, оскільки передбачає її використання для освітлення, тому актуальним є визначення можливості застосування сонячного освітлення для функціонування повного МПЕ.

Метою нашої роботи було встановлення біоелектрохімічних параметрів МПЕ за використання сонячного освітлення.

Матеріали та методи. Для досліду використовували двокамерний (об'єм кожної камери – 1 дм^3) МПЕ Н-типу з попередньо нарощеною (за умов прикладення зовнішньої напруги 3 В) екзоелектрогенною біоплівкою. Під час досліду з мікроводоростями зовнішню напругу не застосовували. Аноліт містив фосфатно-сольовий буфер (PBS) 50 мМ (pH 6,1) ацетат натрію (1 г/дм^3), $FeCl_3$ (200 мкМ) [4] та 10 мл розчину вітамінів і мінералів [5]. Як інокулят в анодній камері використовували ферментований залишок після метаногенезу. Католіт містив середовище Тамія та культури мікроводоростей: 1 – *Chlorella vulgaris*, 2 – *Desmodesmus armatus*. Електроди: каркас – сітка із неіржавіючої сталі, обмотана вуглецевою ниткою. Видима площа поверхні електродів 0,01м^2. Електроди перед запуском промивали 1N HCl та 1N NaOH та залишали в дистильованій воді на 24 год. Тривалість світлового дня протягом проведеного дослідження 9,5±1,25 годин. Вимірювання напруги та струму проводили мультиметром (UT131C), оптичну густину католіту визначали на спектрофотометрі (ULAB 102) за довжини хвилі 680 нм, яка відповідає піку поглинання хлорофілу *a* [2].

Результати та обговорення. Протягом культивування МПЕ спостерігали поступове збільшення оптичної густини католіту у всіх МПЕ, при цьому напруга зростала з 680±34 мВ до 820±41 мВ в МПЕ з *Chlorella vulgaris* та з 695±35 мВ до 858±43 мВ в МПЕ з *Desmodesmus armatus* (рис.1). Однак, в МПЕ з *Chlorella vulgaris* відбувалося незначне зниження напруги до 780±39 мВ, що знаходиться в межах похибки. Струм в обох МПЕ коливався від 80±4 мкА до 100±5 мкА.

Такі результати демонструють можливість застосування сонячного освітлення для виробництва електрики у повному МПЕ з одночасним нарощенням біомаси мікроводоростей у катодній камері. Нарощена біомаса може слугувати джерелом ліпідів для біодизеля. Li та ін. [3] було показано, що вміст ліпідів у мікроводоростях, вирощених у повному МПЕ, становить 19,7%, що на

4% нижче за вміст ліпідів, вирощених у барботажному фотобіореакторі. Крім того, нарощена біомаса мікроводоростей може слугувати джерелом сполук з доданою вартістю, таких як лютеїн, віолаксантин, астаксантин [6].

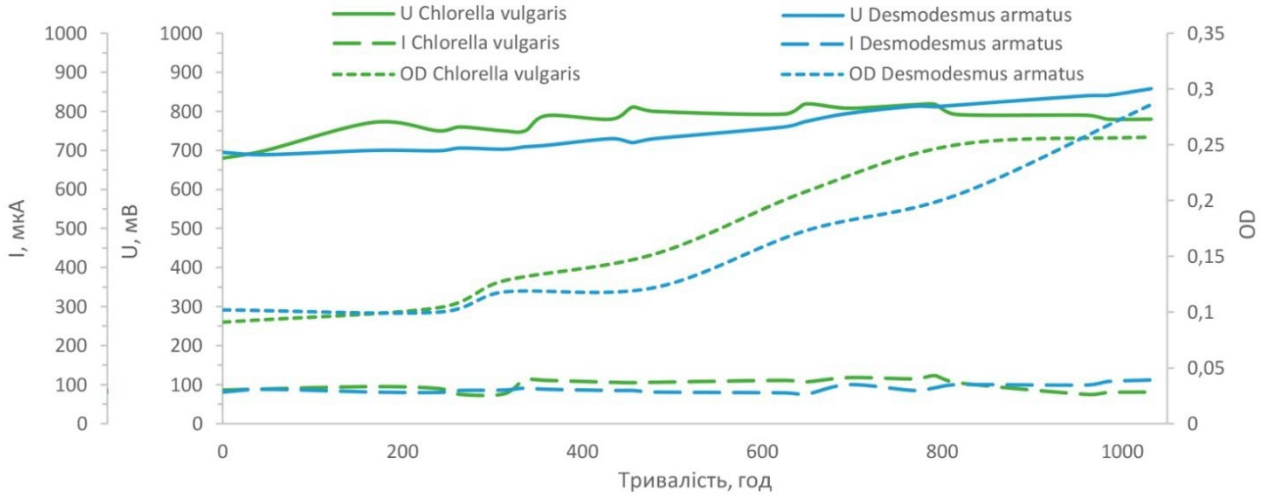


Рис. 1. Зміна напруги (U), струму (I) та оптичної густини (OD) протягом культивування МПЕ за використанням сонячного освітлення

Висновки. Збільшення біомаси мікроводоростей з одночасним зростанням напруги протягом культивування на 20% в МПЕ з *Chlorella vulgaris* та на 23,5% в МПЕ з *Desmodesmus armatus* за використання сонячного освітлення дає змогу знизити витрати на штучне освітлення у разі використання повних МПЕ з мікроводоростями. Нарощена біомаса мікроводоростей може бути використана як сировина у виробництві біодизелю, а також для отримання сполук з доданою вартістю, таких як лютеїн, віолаксантин, астаксантин.

Список використаної літератури:

1. The effect of different light intensities and light/dark regimes on the performance of photosynthetic microalgae microbial fuel cell / E. Bazdar et al. *Bioresource Technology*. 2018. Vol. 261. P. 350–360. URL: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.026

2. Performance evaluation of yeast-assisted microalgal microbial fuel cells on bioremediation of cafeteria wastewater for electricity generation and microalgae biomass production / M. Christwardana et al. *Biomass and Bioenergy*. 2020. Vol. 139. P. 105617. URL: https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105617

3. Carbon dioxide sequestration accompanied by bioenergy generation using a bubbling-type photosynthetic algae microbial fuel cell / M. Li et al. *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 280. P. 95–103. URL: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.038

4. Response of the microbial community structure of biofilms to ferric iron in microbial fuel cells / Q. Liu et al. *Science of The Total Environment*. 2018. Vol. 631-632. P. 695–701. URL: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.008

5. Koltysheva D., Shchurska K., Kuzminskyi Y. Anode Biofilm Formation With Applied External Voltage. *Innov Biosyst Bioeng*. 2023. Vol. 7 No. 1. P. 14-23. https://doi.org/10.20535/ibb.2023.7.1.273816

6. Koltysheva D., Shchurska K., Kuzminskyi Y. Microalgae and cyanobacteria as biological agents of biocathodes in biofuel cells. *BioTechnologia*. 2021. Vol. 102, no. 4. P. 437–444. URL: https://doi.org/10.5114/bta.2021.111108

АЛГОРИТМ ПОШУКУ ТКАНИНОСПЕЦИФІЧНИХ ГЕНІВ, ПРОДУКТИ ЯКИХ СЕКРЕТУЮТЬСЯ У КРОВ, НА ПРИКЛАДІ ПЛАЦЕНТИ ЛЮДИНИ

Кукуруза Є.О.[1], Лихенко О.К.[2], Оболенська М.Ю.[2]
[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського, kukuruza.yevhenii@lll.kpi.ua
[2]Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Вступ. Пошук тканиноспецифічних маркерів, які секретуються в кров, був, є і залишається актуальним для медицини. В роботі було зосереджено увагу на плаценті людини, порушення функцій якої пов'язані з кількома ускладненнями вагітності (викидні, прееклампсія, затримка внутрішньоутробного росту). Особливо важливим пошук маркерів є у разі прееклампсії, яка є поширеною у світі (2-8% усіх вагітностей) та спричиняє від 9 до 26% материнських смертей [1]. Діагностика ускладнення базується на клінічних симптомах, таких як прогресуюче підвищення артеріального тиску і протеїнурія, які з'являються після 20-го тижня вагітності. Надійна рання діагностика відсутня. Існуючі методи мають незадовільну специфічність та чутливість [2].

Метою нашою роботи є розробка методу пошуку тканиноспецифічних маркерів на основі аналізу диференційно експресованих генів між другим і першим триместрами неускладненої вагітності; використання даного методу для визначення генів, які кодують плацентоспецифічні білки крові.

Матеріали та методи. Для пошуку генів, які кодують плацентоспецифічні секреторні білки, було використано перелік із 266 диференційно експресованих генів між другим і першим триместрами неускладненої вагітності із абсолютним значенням кратності зміни експресії $|\lg \mathrm{FC}| > 1,0$. Цей перелік було отримано раніше внаслідок інтегративного аналізу експресії генів у 22 зразках плацентарної тканини (13 зразків з першого і 9 зразків з другого триместру) [3]. Інформація щодо тканиноспецифічності білків, що кодуються даними генами, та факту їх секреції була отримана з відкритої бази даних Human Protein Atlas (HPA) [4].

Для пошуку було створено програму мовою Python із застосуванням бібліотек *openpyxl*, *requests* і *re*. Бібліотека *openpyxl* була використана для зчитування символу гена, його коду Ensembl та значення $\lg \mathrm{FC}$ (Fold Change) з вихідного ряду даних. Бібліотека *requests* була використана для програмованого доступу до бази даних HPA [5] для отримання з неї відомостей щодо тканиноспецифічності продуктів експресії генів (поле *RNA tissue specificity*) та даних щодо місця, куди вони секретуються (поле *Secretome location*). Згідно з класифікацією, що використовується HPA, тканиноспецифічними називаються такі білки, концентрація мРНК яких у відповідній тканині у чотири рази перевищує середню концентрацію мРНК у всіх інших тканинах [6]. Бібліотека *re* була використана для пошуку серед отриманого списку генів таких, поле *RNA tissue specificity* яких містило рядок «placenta», а поле *Secretome location* – рядок «Secreted to blood».

Результати та обговорення. Було проаналізовано 266 диференційно експресованих генів між першим та другим семестром вагітності і виокремлено п’ять генів, *CSHL1*, *EBI3*, *LIPG*, *CSH1* та *F13A1*, продукти яких тканиноспецифічні для плаценти і потенційно секретуються у кров. Експресія усіх наведених генів збільшується між першим та другим триместром (табл. 1).

Таблиця 1. Кратність змін в експресії генів, продукти яких потенційно секретуються у кров і є плацентоспецифічними

Символ гена	CSHL1	CSH1	EBI3	LIPG	F13A1
lg FC	2,251	1,637	1,894	1,385	1,287

CSHL1 відноситься до кластеру генів людського гормону росту та людського плацентарного лактогена (*hGH/hCS* кластер), який містить 5 генів: *GH1*, *GH2*, *CSH1*, *CSH2* та *CSHL1* [7]. Функція білка, що кодується геном *CSHL1*, на цей час невідома. Відсутність досліджень даного білка першочергово пояснюються його застарілій класифікації як псевдогена та високою гомологією з іншими представниками кластеру. Функція інших білків кластера полягає у стимулюванні росту й енергетичного обміну (*GH1*)[8] та регуляції метаболізму матері під час вагітності для сприяння забезпечення плоду енергією (*GH2*, *CSH1* та *CSH2*)[9, 10]. Відповідно, можна припустити, що білок гена *CSHL1* також бере участь у процесах регуляції метаболізму організму матері. Значення $\lg FC$ свідчить про підвищення експресії гена під час переходу від першого до другого триместру, згідно з чим можна зробити припущення і про збільшення концентрації цього білка у сироватці крові.

Окрім регуляції метаболізму матері, продукт гена *CSH1* також бере участь у регуляції проліферації клітин молочної залози [10, 11]. Білок, який він кодує, є гормоном під назвою плацентарний лактоген людини. Збільшення експресії *CSH1* між першим та другим триместром відповідає існуючим дослідженням стосовно зміни концентрації плацентарного лактогена у крові упродовж вагітності [11].

Ген *EBI3* кодує субодиниці інтерлейкінів 27 та 35, які утворюються у разі комбінації його продукту з білками p28 та IL-12p35, відповідно [12], і які беруть участь у регуляції диференціації Т-клітин та інгібуванні розвитку запалення [13]. Встановлене збільшення експресії даного гена відповідає результатам інших досліджень, які повідомляють про послаблення активності $CD4^+$ Т-лімфоцитів, пов’язаної з підтриманням розвитку запальних процесів, на другому триместрі [14].

Ген *LIPG* кодує ендотеліальну ліпазу людини – білок, основна функція якого полягає у гідролізі ліпопротеїнів високої щільності (ЛВЩ, англ. *High Density Lipoprotein*) [15]. Збільшення експресії даного гена між першим та другим триместром, скоріше за все, пов’язане зі змінами у метаболізмі ліпідів, необхідними для забезпечення ембріону енергією. Оскільки ЛВЩ беруть участь у зменшенні вмісту холестерину у клітинах ендотелію, то вважається що збільшення рівня експресії *LIPG* може мати атерогенну дію [15].

Продуктом експресії *F13A1* є фактор зсідання крові XIII, також відомий як фактор стабілізації фібрину. Даний білок забезпечує останню стадію утворення тромбу. Вважається, що його накопичення у плаценті сприяє формуванню цитотрофобласту між п’ятим та десятим тижнем вагітності [16], що відповідає

встановленому часовому проміжку збільшення його експресії. За мутації, яка деактивує даний ген, спостерігається передчасне відшарування плаценти та ранні пологи [16, 17].

Висновки. На основі даних диференційної експресії генів у конкретній тканині за певних умов було розроблено метод пошуку генів, продукти експресії яких є тканиноспецифічними та можуть секретуватися у кров. Такі продукти є потенційними маркерами стану даної тканини або органу.

У плаценті людини під час переходу від першого триместру нормальної вагітності до другого було виявлено п’ять диференційно експресованих генів, продукти яких можуть секретуватися у кров та є плацентоспецифічними: *CSHL1*, *EBI3*, *LIPG*, *CSH1* і *F13A1*. Білки, які кодуються даними генами, можуть бути маркерами здорового проходження вагітності на даному етапі розвитку плаценти за підтвердження факту їх секреції і розробці чутливих методів визначення їх концентрації.

Розроблений нами метод пошуку тканиноспецифічних генів, продукти яких потенційно секретуються у кров, також може бути використаний для пошуку маркерів ускладнень вагітності, пов’язаних з порушенням функцій плаценти.

Список використаної літератури:

1. Karrar S. A., Hong P. L. Preeclampsia. Treasure Island (FL): StatPearls, 2023.
2. External validation of prognostic models predicting pre-eclampsia: individual participant data meta-analysis / K. I. E. Snell et al. BMC Medicine. 2020. Vol. 18, no. 1.
3. Lykhenko O., Frolova A. O., Obolenskaya M. Y. Creation of gene expression database on preeclampsia-affected human placenta. Biopolymers and Cell. 2018. Vol. 33, no. 6. P. 442–452.
4. The human secretome / M. Uhlén et al. Science Signaling. 2019. Vol. 12, no. 609.
5.Programmatic data access. The Human Protein Atlas. URL: https://www.proteinatlas.org/about/help/dataaccess (date of access: 25.04.2023).
6.Assays and annotation. The Human Protein Atlas. URL: https://www.proteinatlas.org/about/assays+annotation (date of access: 25.04.2023).
7. Misra-Press A., Cooke N. E., Liebhaber S. A. Complex alternative splicing partially inactivates the human chorionic somatomammotropin-like (hCS-L) gene. Journal of Biological Chemistry. 1994. Vol. 269, no. 37. P. 23220–23229.
8. Rosenfeld R. G., Hwa V. The Growth Hormone Cascade and Its Role in Mammalian Growth. Hormone Research in Paediatrics. 2009. Vol. 71, no. 2. P. 36–40.
9. Human Placental Growth Hormone–A Review / M. C. Lacroix et al. Placenta. 2002. Vol. 23. P. S87–S94.
10. Walsh S. T. R., Kossiakoff A. A. Crystal Structure and Site 1 Binding Energetics of Human Placental Lactogen. Journal of Molecular Biology. 2006. Vol. 358, no. 3. P. 773–784.
11. The Human Placental Lactogen Genes: Structure, Function, Evolution and Transcriptional Regulation / W. H. Walker et al. Endocrine Reviews. 1991. Vol. 12, no. 4. P. 316–328.
12. Epstein-Barr virus-induced gene 3 negatively regulates IL-17, IL-22 and RORγt / J. Yang et al. European Journal of Immunology. 2008. Vol. 38, no. 5. P. 1204–1214.
13. Epstein–Barr virus-induced gene 3 commits human mesenchymal stem cells to differentiate into chondrocytes via endoplasmic reticulum stress sensor / T. Zhang et al. PLOS ONE. 2022. Vol. 17, no. 12.
14. Characterizing the Pregnancy Immune Phenotype: Results of the Viral Immunity and Pregnancy (VIP) Study / T. A. Kraus et al. Journal of Clinical Immunology. 2011. Vol. 32, no. 2. P. 300–311.
15. The Role of Endothelial Lipase in Lipid Metabolism, Inflammation, and Cancer / J. E. Yu et al. Histol Histopathol. 2018. Vol. 33, no. 1. P. 1–10.
16. Maternal Blood Coagulation Factor XIII is Associated with the Development of Cytotrophoblastic Shell / T. Asahina et al. Placenta. 2000. Vol. 21, no. 4. P. 388–393.
17. Coagulation factor XIII deficiency – Report of a newborn F13A1 Val34Leu polymorphism carrier / G. N. Katsaras et al. JPNIM. 2022. Vol. 11, no. 2.

EVALUATION OF THE SAFETY OF USING ENTEROCOCCI BASED ON THEIR COMPLETE GENOME ANALYSIS

Mora N.V. [1], Zelena L.B.[1], Tkachuk N.V.[2]
[1]Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, Ukraine; zelenalyubov@gmail.com
[2]T.H. Shevchenko National University «Chernihiv Colehium», Chernihiv, Ukraine

Introduction. Enterococci are lactic acid bacteria (LAC) containing both pathogenic and commensal microorganisms that are widespread in the environment, even as intestinal symbionts. Due to their resistance to salts and acids, strains of *Enterococcus* spp. can adapt to various environments, they are also involved in the fermentation of cheeses and dry sausages, in which they are believed to contribute to the development of the organoleptic characteristics of these products [1]. Besides, some strains of *Enterococcus* have been shown to produce antimicrobial compounds, including bacteriocins. Bacteriocins are used as natural preservatives to preserve a wide range of food products; which is sometimes seen as a probiotic characteristic. Bacteriocins are considered as a promising alternative to combat antimicrobial resistance [2]. Although certain antibiotic-resistant infectious enterococci strains, including *E. faecium*, have been identified in hospital patients, they very rarely pose a risk of infection to people outside the healthcare setting.

Genomes of various microorganisms are also characterized for the presence of mobile genetic elements (MGEs). MGEs are represented DNA fragments that can move within bacterial genome or between different genomes, transferring in such way the various coding sequences, including virulence, toxin and antibiotic resistance genes. The last one is called horizontal gene transfer and brings either benefits or drawbacks [3].

Sequencing the complete genomes of microorganisms with further processing using bioinformatics analysis tools provides easy access and study of the information encoded in the genome using existing tools and databases [4]. Bioinformatic analysis of the genome allows obtaining detailed information about the potential metabolic capabilities of the organism and creating a map that reveals the potential for genetic engineering manipulations with the aim of improving the strain for use in industry. In the study of adaptation and evolution, bioinformatics analysis is used to identify new genes that allow microorganisms to adapt and survive in diverse environments [5]. In the process of finding and identifying microorganisms for further use in various industries, bioinformatics plays a key role in the initial analysis of the safety of these strains, in particular, it determines genes for virulence or the synthesis of toxic metabolites that cannot be detected using microbiological or biochemical methods [6].

The aim of the presented study was to analyze the complete genome of enterococci regarding the presence of antibiotic resistance genes and mobile elements sequences.

Materials and methods. The complete sequences of two *E. faecium* strains were downloaded from GenBank. The genome of *E. faecium* strains was analyzed in terms of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements. The bioinformatic tools and

databases were used for this purpose. The Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD), free available database on the Internet, was used to search for antibiotic resistance genes. Database web address is https://card.mcmaster.ca/. CARD includes tools for molecular sequence analysis, including BLAST and Resistance Gene Identifier software for resistome prediction based on homology and single nucleotide polymorphism patterns. The Alien_Hunter tool was used to search for mobile genetic elements that may facilitate horizontal gene transfer [7].

Results and discussion. Two strains of *E. faecium* with contrast isolation sources were chosen from the database: strain H7 isolated from the honey bee and strain UC7251 isolated from the fermented sausage. Both strains had the similar general genome characteristics presented in the table 1.

Table 1. Main characteristics of genome of *E.faecium* strains.

Strain	Genome size, Mbp	GC content, %	Protein coding genes	rRNA genes	tRNA genes
E. faecium H7	2,65	37,8	2574	18	70
E.faecium UC7251	2,61	38,1	2517	18	70

Results obtained in the study showed that genome of strain H7 and strain UC7251 contained genes encoding resistance to fluoroquinolone, macrolide and rifamycin antibiotics, besides genes of tetracycline and erythromycin resistance were defined in strain UC7251. Analysis of mobile genetic elements in enterococci genome revealed 28 and 51 such sequences in H7 and UC7251, respectively. Horizontal gene transfer carries many potential hazards: it can increase the adaptability of bacterial species or promote spreading of virulence and antibiotic resistance genes, for example, among microorganisms.

Conclusions. Thus, analysis performed in the presented research determined antibiotic resistance genes and high level of mobile genetic elements in *E.faecium* genome that maybe the potential hazardous factors of using these strains in any biotechnological processes. Therefore, it suggests that careful analysis of enterococci genomes should be carried out as an initial step of bacterial application in medical, agricultural, food, pharmaceutical and other fields.

References:

1. Moreno MF, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. The role and application of enterococci in food and health. International journal of food microbiology 2006; 106(1):1-24.

2. Vieco-Saiz N, Belguesmia Y, Raspoet R, et al. Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. Frontiers in microbiology 2019; 10: 57.

3. Vogan AA, Higgs PG. The advantages and disadvantages of horizontal gene transfer and the emergence of the first species. Biol Direct 2011; 6 (1): 1-14.

4. Abdelhamid AG, El-Masry SS, El-Dougdoug NK. Probiotic Lactobacillus and Bifdobacterium strains possess safety characteristics, antiviral activities and host adherence factors revealed by genome mining. EPMA Journal 2019; 10: 337-350.

5. Martino ME, Bayjanov JR, Cafrey BE. Nomadic lifestyle of Lactobacillus plantarum revealed by comparative genomics of 54 strains isolated from different habitats. Environmental Microbiology 2016; 18: 4974–4989.

6. Wang S, Yang B, Ross P, et al. Comparative genomics analysis of Lactobacillus ruminis from different niches. Genes 2020; 11: 1–17.

7. Horne T, Orr VT, Hall JP. How do interactions between mobile genetic elements affect horizontal gene transfer? Current Opinion in Microbiology 2023; 73: 102282–102289.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ МОНІТОРИНГУ ЗМІН ІНТЕНСИВНОСТІ ЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM*

Невгад В.В.[1], Грецький І.О.[2], Громозова Е.Н.[2], Горго Ю.П.[1]
[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського, evleria18283848@gmail.com, yugorgo@ukr.net
[2]Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України

Вступ. Існує багато праць, що варіації геомагнітного поля мають високу ступінь подібності з динамікою змін багатьох мікробіологічних та клітинних систем та процесів, особливо під час магнітних бур [1]. Використання мікробіологічних біосенсорів за моніторингу геомагнітної активності дає змогу дослідити різні біологічні ефекти під час варіацій геомагнітного поля та для біотестування дії неіонізуючого електромагнітного випромінювання [2]. Тому біодатчики з використанням люмінесценції бактерій привертають особливу увагу, оскільки люмінесценція є ферментативним процесом, пов'язаним із загальним метаболізмом клітини, який реагує на зміни навколишнього середовища [3]. Попередньо проведені експериментальні дослідження зв'язків між геомагнітною активністю й інтенсивністю люмінесценції бактерій *Photobacterium phosphoreum* показали статистично значущу зворотну залежність з коефіцієнтом кореляції R = - 0,51 (p <0,01) [4]. Проте вивчення специфічного впливу геомагнітного поля на інтенсивність бактеріальної люмінесценції вимагає автоматизованих тривалих паралельних вимірювань в реальному часі і в єдиному просторі [5].

Метою даної роботи є розробка методики проведення моніторингу змін інтенсивності люмінесценції *Photobacterium phosphoreum* IMV B-7071 для співставлення з одночасним моніторингом флуктуацій геомагнітного поля.

Матеріали та методи. В ферментері використано штам морських бактерій *P. phosphoreum*, здатних до світіння. Штам зареєстровано в депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України під номером IMB B-7071. Даний штам був виділений з чорноморського катрана *Squalus acanthias*. Культивування люмінесцентних бактерій проводили на щільному поживному середовищі такого складу (г/л): пептон – 5,0; дріжджовий екстракт – 1,0; NaCl – 30,0; Na_2HPO_4 – 5,3; KH_2PO_4 x $2H_2O$ – 2,1; $(NH_4)_2HPO_4$ – 0.5; $MgSO_4$ x H_2O – 0,1; гліцерин – 3,0 мл/л, агар-агар – 20 г/л, вода дистильована – до 1 л, pH 7,6 [5]. В ферментері використовували добову культуру мікроорганізмів, вирощену на твердому поживному середовищі та поміщену в світлозахисний термостат.

Розроблена методика виміру інтенсивності люмінесценції передбачає приготування суспензії бактеріальних клітин, яку поміщали в хімічний стакан та розміщували під об’єктивом фотолюмінометру [5]. Отриманий сигнал підсилювали та реєстрували за допомогою мультиметру UK-830LN. Вимірювання біолюмінесценції бактерій проводили через 5 хвилин після встановлення зразку під об’єктивом приладу. Дослідження інтенсивності

світіння бактерій відбувалося в темній кімнаті. На першому етапі проводили вимір рівня "темнового сигналу" фотопомножувача – U_0, потім під об'єктив поміщали зразок з бактеріями і вимірювали сигнал від зразку з бактеріями *Photobacterium phosphoreum* – U_1. Інтенсивність сигналу від зразку з бактеріями перевершувала рівень "темнового сигналу", як правило, більш ніж в два рази. Для подальшого аналізу використовували різницю сигналів $U = U_1 – U_0$, який був пропорційний інтенсивності бактеріального світіння. Для оцінки інтенсивності люмінесценції використовували фотопомножувач ФЕП-115. Для статистичної обробки набору даних інтенсивності біолюмінесценції бактерій було використане програмне забезпечення Microsoft Office Excel 2010.

Проте вивчення інтенсивності бактеріальної люмінесценції цим методом дозволяло вимірювати біолюмінесценцію за незначні проміжки часу [4].

Результати та обговорення. Для розроблення методики довготривалого вимірювання інтенсивності біолюмінесценції культури бактерій за варіювання інтенсивності геомагнітного поля було досліджено залежність бактеріальної люмінесценції від зміни температури, pH поживного середовища, концентрації NaCl та культивування на синтетичному і гелевому середовищах. Відмічено, що максимальний рівень світіння спостерігався в діапазоні температур від 10 до 28 ℃ і pH від 5,5 до 9,1. У разі підвищення температури вище 28 ℃ чи зміні pH середовища відзначено значне зниження світіння, а у разі досягнення 35 ℃ спостерігали необоротну втрату люмінесценції. Для отримання достовірного результату при довготривалих експериментальних вимірах біолюмінесценції було проведено визначення умов стандартизації поживного середовища з параметрами: pH = 7,6; t = 20 ℃.

Для розроблення методики довготривалого вимірювання було проведено визначення умов стабілізації експериментальних вимірів шляхом вибору об’єму та кількості клітин досліджуваної суспензії люмінесцентних бактерій. Оскільки кисень є фактором стабільності прояву фонової люмінесценції бактерій, було з’ясовано, що кількість його у пробі визначає вибір об’єму проби та оптичної густини суспензії. Для цього кожен зразок послідовно розводили та отримали серію проб з різною кількістю клітин. Отримані бактеріальні суспензії досліджували на фотолюмінометрі, і було визначено, що для довготривалого вимірювання інтенсивності біолюмінісценції доцільно використовувати суспензії об'ємом 3 мл з оптичною густиною 0,1 (670 нм).

Для апробації методу моніторингових досліджень біолюмінесценції було створено комплекс для безперервного культивування бактерій *P. phosphoreum* з урахуванням визначених умов стандартизації поживного середовища та об'єму і оптичної густини суспензій. Комплекс складається з культиватора, допоміжної системи безперервної доставки та забору культуральної рідини у вигляді системи трубок, насосу та ємності з поживним середовищем. Система трубок та насос дають змогу проводити перекачку поживного середовища в культиватор, а також подачу культуральної рідини з культиватора на промисловий цифровий мультиметр UNI-T.

Кількісну оцінку інтенсивності люмінесценції бактерій проводили за допомогою фотоелектронного помножувача ФЕП-115 та пристрою для дослідження швидкоплинних процесів і зчитування графічної інформації з сурьмяно-натрієво-цезієвим фотокатодом. Виміри інтенсивності люмінесценції культури бактерій проводили з частотою 1 Гц, з подальшим розрахунком їх середніх похвилинних значень. Вибір такої технології реєстрації пов'язаний з метою досягнення максимальної чутливості до змін інтенсивності біолюмінесценції. В технологічній схемі такого комплексу використано промисловий цифровий мультиметр UNI-T UT171A (№160413239), що дало можливість використати персональний комп'ютер для безперервної реєстрації даних. Розроблена методика моніторингу змін інтенсивності люмінесценції *Photobacterium phosphoreum* IMV B-7071 дозволяє співставляти отримані значення з даними моніторингу флуктуацій геомагнітного поля в реальному режимі на протязі 6-7 годин.

Висновки. Попередньо проаналізовані сумісні в часі зміни геомагнітної активності та інтенсивності люмінесценції бактерій показали на наявність впливу цього геофізичного фактору на прокаріотичні організми.

Практичний інтерес викликає можливість використання моніторингу люмінесценції бактерій для прогнозування збурень геомагнітного поля та розвитку магнітних бур.

Список використаної літератури:

1. Особливості функціонування біологічних об'єктів за дії низькочастотних магнітних полів різного походження / Ю. Горго та ін. *Вісник КНУ. Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2005. Т. 10. С. 28–31.

2. Microorganisms As A Model System For Studying The Biological Effects Of Electromagnetic Non-Ionizing Radiation / E. Gromozova et al. *Safety Engineering*. 2012. Vol. 2, no. 2. P. 89–92.

3. Дроздов А., Громозова Е., Грецький И. Аналіз динаміки інтенсивності біолюмінесценції світлових бактерій *Photobacterium phosphoreum*. *Біофізика*. 2015. Т.60, № 2. С. 316–321.

4. Gorgo Y., Gretsky I., Demydova O. The Use of Luminos Bacteria *Photobacterium phosphoreum* as a Bioindicator of Geomagnetic Activity. *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2018. Vol. 2, no. 4. P. 271–277. URL: https://doi.org/10.20535/ibb.2018.2.4.151459

5. Грецький І., Громозова О., Воцелко С. Використання композицій полісахаридів мікробного походження для культивування люмінесцентних бактерій Photobacterium phosphoreum IMB B-7071. *Наук. записки Тернопільського національного педуніверситету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія.* 2017. № 2. С. 46–51.

ЗАСТОСУВАННЯ ШТУЧНОГО ІНТЕЛЕКТУ В БІОТЕХНОЛОГІЇ, СІЛЬСЬКОМУ ТА ЛІСОВОМУ ГОСПОДАРСТВІ

Неділько О.В., Зеленюк А.Н.
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
nedilkolexandra@gmail.com, zeleniuk.andrii05@gmail.com

Вступ. У сучасному світі спостерігається стрімкий розвиток сфери інформаційних технологій та способів застосування їх в багатьох сферах нашого життя для прискорення та автоматизації тих процесів, якими раніше займались люди.

Останнім часом піком досягнень стало винайдення штучного інтелекту (скорочено - ШІ), який може вчитися на своїх помилках, аналізуючи та використовуючи доступну в мережі інформацію. Це відразу набуло неабиякої популярності в ЗМІ та стало цікавою темою для досліджень. Проте поняття ШІ існувало і раніше, але в розумінні комп'ютерної системи, яка використовувалась для автоматизації складних математичних обчислень або для прискорення виробничого процесу. Масове застосування ШІ можна було спостерігати в таких галузях як авіаційна та автомобільна промисловості ще з кінця 70-х років, оскільки ці види діяльності потребують точності та мають великий обсяг розрахунків.

На цей час ШІ став настільки розвинутим, що ігнорувати його вплив на більшість галузей нашого життя просто неможливо. Навпаки, його застосування треба розвивати та удосконалювати.

Метою нашої роботи є дослідження використання ШІ в сферах біотехнології, сільського та лісогосподарства.

Матеріали та методи. Було проведено аналітичний огляд 7-и методів застосувань ШІ в трьох галузях:

- 2 методи в біотехнології
- 2 методи в сільському господарстві
- 3 методи в лісогосподарстві

Ці методи були обрані, оскільки вони є актуальними для застосування в Україні, а також показали перспективні результати на практиці.

Результати та обговорення. В результаті проведеного дослідження було розглянуто практичні методи застосування ШІ на прикладі створених різними компаніями систем і програм на базі ШІ для досягнення більшої ефективності досліджень та пришвидшення робочих процесів.

Методи застосування ШІ в біотехнології:

AlphaFold — це програма на базі ШІ, розроблена DeepMind, яка передбачає та будує тривимірну структуру білка за його амінокислотною послідовністю. AlphaFold регулярно досягає точності, що конкурує з експериментами, проведеними науковцями під час практичних досліджень [1]. Завдяки цьому ШІ створена AlphaFold DB — база даних в якій було зібрано прогнозовані структури для майже всіх каталогізованих білків – близько 1-го мільйона структур. Останнє оновлення бази даних містить вже понад 200 мільйонів записів, що забезпечує

прогнозованими тривимірними структурами велику кількість бази даних UniProt (стандартне сховище білкових послідовностей і анотацій) [2]. Перспективність використання цієї системи можна побачити на діаграмі нижче (рис. 1).

Рис. 1: Порівняльна діаграма: кількість структур білка, визначених експериментально, та за допомогою AlphaFold [2].

Технологія фармацевтичної компанії Atomwise використовує згорткові нейронні мережі для прогнозування біоактивності малих молекул, які застосовують для розробки ліків на базі ШІ – AtomNet [3]. AtomNet аналізує мільярди сполук *in silico*, щоб визначити невелику конкретну підмножину молекул для синтезу та тестування *in vitro*, а потім *in vivo* [3].

Також було визначено практичні методи застосування ШІ у сільському та лісовому господарстві:

Robocrop – це роботизована система, розроблена різними дослідницькими групами, на основі штучного інтелекту, яка покращує процес отримання рослинної продукції. Він точно та з високою швидкістю вибудовує інструменти для догляду за врожаєм (полив, обрізка, боротьба зі шкідниками) Це підвищує продуктивність насаджень лише завдяки мультикамерам, декільком датчикам та відповідним інструментарієм для реагування за визначеними параметрами [4].

FarmShots – це стартап-система на базі ШІ, який аналізує дані сільськогосподарської інформації, отриманої зі знімків, зроблених дронами та супутниками. Ця система розроблена для відстеження та прогнозування різних впливів навколишнього середовища, наприклад зміни погоди, на врожайність [5].

ForestSense – це система моніторингу лісових екосистем за допомогою сенсорів та ШІ. Дані із сенсорів аналізуються завдяки навчальним алгоритмам для прогнозування ризику пожеж, виявлення хвороб дерев та визначення ефективності заходів з управління лісовими ресурсами [6].

SilviScan – вимірювальна система, яка об’єднує три принципи вимірювання для ефективної характеристики багатьох властивостей деревини та волокна з

одного зразка деревини: мікроденситометрія, аналізи зображень волокон і судин, дифрактометрія для орієнтації в якості деревині.

Система використовує ШІ для аналізу зображень деревини, що дає змогу ефективно визначати якість деревини та використовувати за призначенням [7].

Vision Impulse – програма на основі ШІ, створена організацією ForestAI, для лісової таксації. Vision Impulse застосовує методи ШІ та зосереджена на таких аспектах: моніторинг лісогосподарських проєктів, виявлення вирубки лісів, управління та перевірка лісокористування [8].

Висновки. Проведено опис практичних методів використання ШІ різними компаніями та проєктами в біотехнології, сільському та лісовому господарстві. Основний спосіб застосування ШІ в цих сферах – це створення автоматизованих систем на основі різних програмних засобів з використанням певної бази даних. Всі розглянуті методи показують високу ефективність у своїх галузях, мають великий потенціал для розвитку та підвищують продуктивність виробництв. Також варто зазначити, що Україна має великі перспективи у впровадженні застосування ШІ запропонованими методами. Це поліпшить сектор біотехнології, сільського та лісового господарства, оскільки в Україні для цього є значна сировинна та ресурсна бази.

Список використаної літератури:

1. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold URL: https://www.nature.com/articles/s41586-021-03819-2 (дата звернення: 29.04.2023).

2. AlphaFold reveals the structure of the protein universe URL: https://www.deepmind.com/blog/alphafold-reveals-the-structure-of-the-protein-universe (дата звернення: 29.04.2023).

3. Atomwise URL: https://golden.com/wiki/Atomwise-EAVDJ88 (дата звернення: 29.04.2023).

4. Indrajeet Kumar, Jyoti Rawat, Noor Mohd, and Shahnawaz Husain.Opportunities of Artificial Intelligence and Machine Learning in the Food Industry. U.:2.2 – Robocrop. URL: https://www.hindawi.com/journals/jfq/2021/4535567/ (дата звернення: 29.04.2023).

5. Indrajeet Kumar, Jyoti Rawat, Noor Mohd, and Shahnawaz Husain. Opportunities of Artificial Intelligence and Machine Learning in the Food Industry. U.:2.3 – Predictive Analytics. URL: http://farmshots.com/ (дата звернення: 29.04.2023).

6. Assistance in landscape restoration URL: https://www.forestsense.org/ (дата звернення: 29.04.2023).

7. SilviScan - efficient instrument for detailed characterization of wood and fibre properties. URL: http://www.trees4future.eu/transnational-accesses/silviscan.html (дата звернення: 29.04.2023).

8. ForestAI URL: https://business.esa.int/projects/forestai (дата звернення: 29.04.2023).

PRODUCTION OF HYDROGEN AND ELECTRICITY IN A MICROBIAL FUEL CELL

Nizhnyi D.A.
Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, nizhnyi.danyil@lll.kpi.ua

Introduction. Hydrogen is a promising renewable energy source that can reduce greenhouse gas emissions and dependence on fossil fuels. However, current methods of hydrogen production using non-renewable energy sources have limitations such as high energy requirements, high production costs and low efficiency. The search for alternative renewable raw materials and ways of extracting hydrogen and electricity from them is urgent. The enzymatic method has a low yield of hydrogen (up to 4 mol of H_2/mol of glucose), but with the combined use of the two processes in a microbial fuel cell (MFC), it is possible to obtain an ecologically clean resource - hydrogen and simultaneously obtain electricity or increase the yield of hydrogen. The aim is to analyze methods of increasing the efficiency of MFC for the production of electricity and hydrogen from waste.

The process of dark fermentation (DF) with the production of biogas, which contains hydrogen and not methane, is a promising method for the production of hydrogen from organic waste. But this process has limitations caused by the transition of the process to methanogenesis and the use of hydrogen by consumers, which the association of microorganisms contains. The technology of microbial fuel cells allows to convert organic compounds into electricity with the help of electroactive bacteria.

The task is to consider approaches to increase the generated power and hydrogen yield in MFC, namely:

- approaches with and without supplying additional energy to the MFC;
- a comparison of the use of monoculture and microbial association;
- selection of the optimal parameters to increase the yield of hydrogen in MFC.

Most of the substrate during fermentation is converted into carboxylic acids (CC), such as volatile fatty acids (VFA) and lactic acid, which limits the output of H_2. Integrating DF with a microbial fuel cell (MFC) or microbial electrolysis cell (MEC) can further convert CC into bioenergy such as CH_4, H_2 and electricity. The simultaneous application of DF and MFC (sDFMFC) in one reactor can be a promising strategy for significant cost savings and obtaining energy and energy carriers. [4].

Materials and methods. For this thesis, a systematic review and meta-analysis were conducted to analyze published scientific articles on hydrogen and electricity production in microbial fuel cells. The literature research involved a comprehensive search of multiple databases, systematic screening and selection of articles based on predefined criteria, quality assessment of included studies, standardized data extraction, and rigorous statistical analysis.

Results and discussion. I. Enzymatic processes of hydrogen production without light. Fermentation is a method of biohydrogen production by various types of microorganisms, such as facultative and obligate anaerobes. The process takes place in the absence of light. The efficiency of biohydrogen generation during dark fermentation is influenced by biomass pretreatment methods, the sugar content of the substrate, and the microorganisms contained in the association. The theoretical yield

of hydrogen can be estimated based on the metabolic pathway of microorganisms and the initial concentration of sugar in the fermentation medium. The three (1-3) thermodynamically favorable dark fermentation metabolic pathways for the conversion of organic substrates to biohydrogen are:

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 4H_2 + 2CH_3COOH + 2CO_2 \quad (1)$$

$$7C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 24H_2 + 6CH_3CH_2COOH + 18CO_2 \quad (2)$$

$$CH_3COOH \rightarrow CH_3CH_2OH + H_2 \quad (3)$$

Dark fermentation produces a mixed gas containing H_2 and CO_2 with other impurities such as CO and H_2S depending on the type of microorganisms and the substrate. No microorganism or consortium has been reported to result in complete substrate bioconversion during dark fermentation to hydrogen due to a positive Gibbs free energy value. The highest theoretical yields of biohydrogen are obtained for the formation of acetate as the final product. A mixture of acetic and butyric acids as final products can fetch maximum hydrogen generation. Microorganisms used in hydrogen fermentation are Clostridia, *Enterobacter, Escherichia coli, Citrobacter, Alcaligenes, Bacillus, Lactobacillus,* Micrococcaceae, Peptococcaceae, Vibrionaceae and Veillonellaceae. The production of biohydrogen increases using thermophilic conditions compared to mesophilic ones. The maximum hydrogen yield of 4 moles per mole of glucose is found under extremely thermophilic conditions (70 °C) by the thermophilic bacteria. On the other hand, hydrogen production decreases to 1 mol under mesophilic conditions and less than 2 moles per mole of glucose in thermophilic conditions [1].

Fermentation byproducts can be used to increase the commercial value of biohydrogen. Parameters affecting hydrogen production during fermentation include temperature, pH, hydraulic retention time, volatile fatty acid content, H_2/CO_2 partial pressure, and inorganic content. The high-temperature range during fermentation limits the growth of pathogenic bacteria, and the pH level has the potential to increase biohydrogen production [1].

In [2], it was shown that pH is the most important factor for increasing H_2 production, since at low values, the process of methanogenesis is inhibited. Artificial Intelligence (AI) techniques such as Artificial Neural Network (ANN) and Support Vector Machine (SVM) were used to analyze the results. SVM is found to be better than ANN and response surface methodology (RSM) in predicting the output of H_2. Genetic algorithm (GA) and particle swarm optimization (PSO) were used to determine the optimal process parameters, with PSO being faster than GA. Under the optimized conditions of pH 6.75, glucose-degrading organic compound (GDOC) concentration 16.16 g/L and temperature 37.55 °C determined by the SVM-GA and SVM-PSO models, the maximum H_2 yield of 8.28 mol H 2 kg^{-1} COD removed was achieved, which was 2.1 times better compared to non-optimized parameters [2].

II. Microbial fuel cells. A microbial fuel cell (MFC) is a bioelectrochemical system that uses microorganisms to convert chemical energy stored in organic matter into electrical energy through substrate oxidation. Anaerobic bacteria at the anode oxidize the organic substrate, generating protons and electrons that are transferred to the cathode, producing water and electricity. MFCs were modified in such a way that 2 processes took place at the same time – obtaining hydrogen in the anode chamber

and at the cathode (MEC), that is, combining electrochemistry with bacterial metabolism to produce hydrogen. To obtain hydrogen at the cathode, an external voltage is applied, which allows hydrogen to be obtained at the cathode. The applied voltage must be greater than the equilibrium voltage generated in the MFC. Under such conditions, it is possible to obtain up to 11 mol of H_2 per mol of glucose.

Electrode materials impact the formation of hydrogen at the cathode. The carbon-based cathodes used, such as Mo2C/N-rGO nanocomposites, were found to be the most efficient, while photocathodes coated with light-sensitive materials also performed well. Different types of cathodes, including stainless steel mesh, foamed nickel, and Ni-Co-P electrodeposited on SS316, were tested for effectiveness, with the latter being found to be the most cost-effective. SSM/PANI/graphene electrodes have also been found to show promising results in hydrogen production at a slightly lower cost than platinum electrodes [3].

Biological factors in MFCs and MECs are important. In the MEC, bacteria are common with various phyla and classes including Proteobacteria, Bacteriodetes and Clostridia. Pseudomonadaceae, Comamonadaceae, and Geobacteraceae are electroactive microbes that produce hydrogen. In MFC, the dominant classes are Proteobacteria and Bacteroidetes. *Lactobacillus* sp., *Propionibacterium* sp. and *Clostridium* sp. were found to increase the yield of biohydrogen. *Desulfovibrio*, *Butyricicoccus*, *Petrimonas* and *Propionivibrio* were the highest proportion of bacteria in MFC [3].

The performance of (MECs) in hydrogen production strongly depends on the applied voltage. An optimal range of 0.25-1.4V is required, as input voltages below or above this range may cause reduced hydrogen production and damage to the electrode material. Inhibiting the growth of methanogens with chemicals or antibiotics can increase biohydrogen production. Direct use of sewage sludge as a source of microbial population can also increase hydrogen formation. For example, studies have shown that the use of a monoculture of *Clostridium butyricum* in a MEC at a voltage of 0.6 V resulted in the formation of 3.2 mmol of hydrogen per hour at the anode. At the same time, the use of an association of *Clostridium acetobutylicum* and *Geobacter sulfurreducens* at the same voltage resulted in the formation of 4.8 mmol of hydrogen per hour at the anode. An optimal combination of parameters such as microbial selection and voltage can improve hydrogen production in MEC.

Temperature affects microbial selection and activity in biohydrogen production, with an optimum temperature of 35°C for exoelectric metabolism and growth. High temperature increases the formation of hydrogen, and in the process, there is also a simultaneous removal of pollutants [2].

III. Combined use of dark enzymatic processes and microbial fuel cell for hydrogen production. sDFMFC may be a more energy-efficient process for hydrogen production compared to water electrolysis, since water electrolysis requires 1.23–2.0 and sDFMFC requires less than 1 V. In addition, sDFMFC has an advantage in the output potential of hydrogen and can achieve an energy yield of as in methanogenesis. Also, in the sDFMFC process, biomass is converted to hydrogen and other biomolecules by DF, and CC is then oxidized by exoelectrics in the microbial film on

the anode, which generates electricity, while ensuring efficient use of resources and recycling of waste.

The simultaneous process of DF and MFC in one reactor (sDFMFC), which is a hybrid process of DF and MFC, may be a promising strategy for industrial hydrogen production technology. In sDFMFC, feed substrates are converted to H_2, CC and other biomolecules by DF, and CC are then oxidized by exoelectrics in the microbial film on the anode, generating electricity. Degradation of complex substrates into smaller molecules, such as CC at the DF stage, would favor MFC reactions. In addition, the removal of CC by MFC can prevent the decrease in pH and the inhibition of CC. Therefore, an increased H_2 yield and energy conversion can be expected in the sDFMFC process. A significant improvement in H_2 production in a simultaneous DF and MEC process has previously been reported. A higher energy recovery of 17.3% was obtained from *S. japonica* with an H_2 yield of 110 of approximately 110 mL/g of volatile suspended solids (VS) at a maximum power density of 1.82 W/m^2, comparatively to the H_2 yield (YH_2) reached a maximum of 89.04 ± 2.1 mL/g-VS at 4th day of the non-combined DF operation.

Conclusions. Various approaches to increase the yield of hydrogen in biogenerators are considered. In particular, it is indicated that the optimal conditions for obtaining the maximum yield of hydrogen are 70°C and 0.25-1.4V in microbial electrolytic cells.

The monoculture of *Clostridium butyricum* made it possible to obtain 3.2 mmol of hydrogen per hour, and the association of *Clostridium acetobutylicum* and *Geobacter sulfurreducens* - 4.8 mmol of hydrogen per hour. Using sDFMFC for hydrogen production can be more energy efficient as it requires less voltage compared to water electrolysis.

Under the optimal conditions of using SVM-GA and SVM-PSO models - pH 6.75, the concentration of organic compounds that decompose glucose (GDOC) 16.16 g / l and temperature 37.55°C - it was possible to achieve a maximum hydrogen yield of 8.28 mol H_2 per kg of dry organic matter, which is 2.1 times higher than the output with non-optimized parameters. The combination of the fermentation process and the microbial fuel cell can be a promising method for reducing energy costs for hydrogen production and reducing its cost.
Production parameters require further investigation to understand their impact on microbial activity and biogenerator production.

References:

1. Sarangi P. K., Nanda S. Biohydrogen Production Through Dark Fermentation. Chemical Engineering & Technology. 2020. Vol. 43, No. 4. P. 601–612.

2. Mahata C., Ray S., Das D. Optimization of dark fermentative hydrogen production from organic wastes using acidogenic mixed consortia. Energy Conversion and Management. 2020. Vol. 219. P. 113047.

3. Microbial electrolysis cells and microbial fuel cells for biohydrogen production: current advances and emerging challenges / A. Saravanan et al. Biomass Conversion and Biorefinery. 2020.

4. Co-production of hydrogen and electricity from macroalgae by simultaneous dark fermentation and microbial fuel cell / T. R. Gebreslassie et al. Bioresource Technology. 2021. Vol. 336. P. 125269.

ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ НИЗЬКОЧАСТОТНИХ ВАРІАЦІЙ ГЕОМАГНІТНОГО ПОЛЯ НА РЕАКЦІЮ МЕТАХРОМАЗІЇ ВОЛЮТИНОВИХ ГРАНУЛ ДРІЖДЖІВ

Опаленик М.М.[1], Громозова О.М. [2], Грецький І.О. [2], Горго Ю.П. [1]
[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського, babka055@gmail.com, yugorgo@ukr.net
[2]Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України

Вступ. Явище метахромазії проявляється в характерній зміні кольору в процесі фарбування толуїдиновим синім, що відбувається в біологічних тканинах чи окремих клітинах, в результаті поглинання світла на різних довжинах хвиль залежно від його концентрації та стану середовища [1]. Завданням сучасних досліджень метахромазії волютинових гранул дріжджів є розробка методів обліку та пояснення змін кольору цієї реакції [1]. Попередньо визначено, що динаміка кольорових та структурних змін реакції метахромазії волютинових гранул дріжджів зберігає високий ступінь подібності з варіаціями геомагнітного поля, особливо під час магнітних збурень та бур [1,2]. Раніше було розроблено програму розрахунків напруженості магнітного поля Землі (МПЗ) на різних частотах та запропоновано визначати вплив низьких частот на молекулярні та клітинні процеси [3]. Існує теорія, що ступінь впливу МПЗ на біологічні об'єкти залежить від його інтенсивності, яка є найвищою за наднизькочастотних значень (<1Гц) геомагнітного поля [2,4,5]. В роботі досліджено, які значення напруженості геомагнітного поля мають особливий вплив на реакції метахромазії волютинових гранул в клітинах дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

Метою роботи були виявлення та розрахунки значень напруженості геомагнітного поля з частотами < 1Гц, за яких відмічаються суттєві зміни реакції метахромазії волютинових гранул дріжджів, які були кількісно оцінені [4]. В цій роботі були використані щоденні значення реакцій метахромазії волютинових гранул дріжджів, проведені в моніторинговому режимі у 2009 р. в Інституті мікробіології та вірусології НАН України [6].

Матеріал та методи. Для виявлення реальних значень напруженості геомагнітного поля на різних частотах було розроблено програму, яка реалізована на мові програмування R [3]. Для роботи програми використано базову версію інтерпретатору R та додатково встановлено пакет “Seewave-1.7.6”, що може взаємодіяти із пакетами “fft” та “signal”, які дозволяють працювати з дискретними сигналами, в тому числі їх моделювати, фільтрувати, та проводити Фур'є перетворення. Всі пакети були вільно встановлені з репозиторіїв CRAN за допомогою команди install.package. Програма дає змогу розраховувати флуктуації МПЗ на вибраній частоті і в будь-якому вибраному періоді доби під час незбурених станів геомагнітного поля та під час магнітних бур і передбачена адаптація програми до таких завдань.

Результати та обговорення. Значення геомагнітного поля в регіоні Києва з частотою дискретизації 1 Гц за 2009 рік були отримані із даних магнітометричної обсерваторії (Демидів, Київська область) та Інституту геофізики НАН України (http://www.igph.kiev.ua/). Для подальшої обробки

даних була обрана компонента X МПЗ. Для обчислення значень напруженості МПЗ при його варіаціях на низьких частотах було застосовано частотні фільтри 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 Гц з програмного пакету “Seewave-1.7.6”.

Для отримання результатів порівнянь були використані щоденні похвилинні та сумарні добові значення напруженості геомагнітного поля у м. Києві в ті дні 2009 р., коли проводили реєстрацію значень реакції метахромазії волютинових гранул дріжджів *S. cerevisiae* [4,6]. Були обчислені середні значення інтенсивності МПЗ на частотах 0.1, 0.01, 0.001,0.0001 Гц тривалістю в 1 годину в той період доби, коли проводилась реакція метахромазії волютинових гранул дріжджів. Відповідно, це дало змогу порівнювати біологічні та геофізичні дані в єдиному просторі та часі.

Проведено попередні дослідження впливу низькочастотних значень геомагнітного поля на реакцію метахромазії волютинових гранул в клітинах дріжджів. Для цього було проведено вибірку всіх днів за жовтень 2009 р., в які проводили дослідження реакцій метахромазії волютинових гранул дріжджів, та сформовано масив їх кількісних значень. Крім того, було сформовано масив середніх одногодинних значень інтенсивності МПЗ на низьких частотах в ці ж дні та проведено їх кореляційний аналіз із визначеними кількісними значеннями змін реакції метахромазії. Попередні отримані коефіцієнти кореляції між інтенсивністю МПЗ на низьких частотах та даними реакції метахромазії волютинових гранул дріжджів складали в ці дні: R = 0,31– на частоті 0.1Гц; R = 0,37– на частоті 0.01Гц; R = 0,41 – на частоті 0.001Гц; R = 0,69 – на частоті 0.0001Гц**.** Отримані результати порівнянь свідчать, що збільшення коефіцієнту кореляції відбувається із пониженням частоти варіацій МПЗ. Крім того, отримані дані напруженості геомагнітного поля на частотах <1 Гц вкладаються в теоретичні розрахунки, що зі зменшенням частоти збільшується інтенсивність МПЗ (з 0,03 нТл до 10 мкТл) [2,5].

Висновки. Виявлені суттєві впливи різкого збільшення напруженості геомагнітного поля на частоті 0.0001 Гц на зміни вираженості реакції метахромазії у волютинових гранулах дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Подальші дослідження дадуть змогу отримати більш вагомі результати за весь 2009 р.

Список виристаної літератури:

1. Research of Metachromatic Reaction of Saccharomyces cerevisiae / E. N. Gromozova et al. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*. 2016. Vol. 78, no. 3. P. 45–51. URL: https://doi.org/10.15407/microbiolj78.03.045

2. Особливості функціонування біологічних об‘єктів за дії низькочастотних магнітних полів різного походження / Ю. Горго та ін. *Вісник КНУ. Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2005. Т. 10. С. 28–29.

3. Горго Ю., Разумовський А. До питання визначення впливу низькочастотних параметрів магнітного поля Землі на біологічні об’єкти. *Молодий вчений*. 2015. Т. 21, № 6. С. 8–11.

4. Information Technology of Color Imaging Assessment of *Saccharomyces cerevisiae* UCM Y-517 Yeast Volutin Granules / O. M. Gromozova et al. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*. 2020. Vol. 82, no. 5. P. 30–35. URL: https://doi.org/10.15407/microbiolj82.05.030

5. Binhi V. N., Rubin A. B. Theoretical Concepts in Magnetobiology after 40 Years of Research. *Cells*. 2022. Vol. 11, no. 2. P. 274. URL: https://doi.org/10.3390/cells11020274

6. Microorganisms As A Model System For Studying The Biological Effects Of Electromagnetic Non-Ionizing Radiation / E. Gromozova et al. *Safety Engineering*. 2012. Vol. 2, no. 2. P. 89–92. URL: https://doi.org/10.7562/se2012.2.02.06

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МАТЕРІАЛІВ ЕЛЕКТРОДІВ РОСЛИННО-МІКРОБНИХ ПАЛИВНИХ ЕЛЕМЕНТІВ

Симоненко Т.П., Зубченко Л.С.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, symonenko.tetiana@lll.kpi.ua

Вступ. Серед глобальних проблем на порядку денному залишається криза енергетичної системи, яка практично повністю залежить від обмежених і непоновлюваних викопних палив. Існуючі технології отримання енергії з альтернативних джерел недосконалі і часто пов'язані з процесами трансформації екосистем і генеруванням специфічних відходів, які важко утилізувати. То ж, актуальним є пошук рішень, які б не мали цих недоліків [1].

В рослинно-мікробних паливних елементах (РМПЕ) відбувається перетворення сонячної енергії в електричну із залученням процесів фотосинтезу і взаємодії рослин з ґрунтовими мікроорганізмами прикореневої зони. РМПЕ є біоелектрохімічною системою, побудованою на основі хімічного паливного елемента, в якій як каталізатори окисно-відновних реакцій на електродах виступають електроактивні бактерії. Рослини в РМПЕ постачають органічні речовини для окиснення на анаеробному аноді, з'єднаному із зовнішнім електричним колом з аеробним катодом, на якому відбувається відновлення кисню. Енергію руху електронів між електродами РМПЕ можна використати для живлення різних споживачів.

Поширення РМПЕ обмежується низькою потужністю та високою питомою вартістю електричного струму. Вихідна потужність РМПЕ залежить від швидкості електродних напівреакцій, яку визначають технологічні параметри електродів [1, 2].

Метою роботи було проаналізувати існуючі наукові напрацювання щодо матеріалів і дизайну електродів в РМПЕ та визначити найбільш доцільні рішення для поточного використання і подальших досліджень.

Матеріали та методи. Порівняльний аналіз літературних джерел, присвячених огляду і дослідженню ефективності матеріалів електродів РМПЕ.

Результати та обговорення. Робота РМПЕ основана на здатності ряду видів бактерій до позаклітинного транспорту електронів через спеціалізовані білкові структури на поверхні клітин або за допомогою розчинних речовин-переносників ендогенного й екзогенного походження. Так звані екзоелектрогенні бактерії в анаеробних умовах переносять електрони, вивільнені в ході розкладу органічних речовин, на позаклітинний твердотільний акцептор, яким в РМПЕ є розміщений у ґрунті анод. Взаємодія екзоелектрогенів з анодом є обов'язковою для функціонування РМПЕ [1, 3].

Також існують електротрофні бактерії, які здатні забирати електрони від позаклітинного твердотільного донора для синтетичних потреб клітини. Електротрофи розвиваються на поверхні катода в однокамерних РМПЕ, де катод розміщується в аеробній зоні ґрунту, або в двокамерних РМПЕ, де катод розміщується у відокремленій від анода камері за допомогою катіонпроникного сепаратора зі штучним культивуванням електротрофів, як правило, у рідкій культурі [4].

Описані групи бактерій взаємодіють з електродами у вигляді електроактивних біоплівок – мікробного угруповання у вигляді тривимірної структури зі скупчень бактеріальних клітин, оточених шаром екзополісахаридів. Утворення біоплівки дає змогу концентрувати клітини і поживні речовини із зовнішнього середовища. Але щільна і товста біоплівка діє як бар'єр для постачання свіжих субстратів до бактерій внутрішніх шарів або для взаємодії електроактивних бактерій зовнішніх шарів з поверхнею електрода, що загалом знижує продуктивність РМПЕ [3, 5].

Враховуючи особливості організації і життєдіяльності електроактивних бактерій, а також практичні аспекти РМПЕ як технології для отримання електричної енергії, до матеріалів для біоанодів і біокатодів висувають такі вимоги: 1) біосумісність, 2) висока електропровідність, 3) велика шорсткість і пористість для збільшення площі контакту електроактивних бактерій з електродами, 4) стійкість до біохімічних і фізико-хімічних впливів для тривалої роботи у ґрунті, 5) висока доступність і низька вартість [1, 4-6].

Матеріали біоанодів і біокатодів, які відповідають даним вимогам і широко використовуються в РМПЕ, можна розділити на такі групи: 1) металічні; 2) вуглецеві, отримані з вуглеводневих або синтетичних похідних; 3) вуглецеві, отримані з біомаси [5, 6].

Проведені дослідження з використанням різноманітних металів для біоелектродів в РМПЕ, включаючи мідь, цинк і титан. Проте єдиним металічним матеріалом, який повністю відповідає вимогам біосумісності, хімічної інертності та доступності, є нержавіюча сталь, яку використовують у вигляді сіток з розміром комірок порядку 1-0,1 мм [7, 8]. Нержавіюча сталь має найвищу провідність серед усіх зазначених груп електродних матеріалів – від 2-х разів вище, ніж у вуглецевих волокон, від 25-ти разів вище, ніж у графіту, і у близько 2,5 тис. разів вище, ніж у біовугілля [7, 9, 10]. Висока провідність нержавіючої сталі сприяє підвищенню продуктивності РМПЕ щонайменше в два рази (до 100 мВт/м^2), ніж у разі використання вуглецевих матеріалів в подібних умовах, незважаючи на значно нижчу питому площу поверхні – для 1 м^2 сталевої сітки поверхня у близько 10 тис. разів менша, ніж для 1 м^2 вуглецевої тканини або графітової повсті [6, 7]. Площинна сітчаста будова з відносно великим розміром отворів, імовірно, сприяє інтенсивнішому масообміну між біоплівкою і ґрунтовим середовищем, що позитивно впливає на продуктивність РМПЕ [7]. Проте головною тенденцією розвитку технології залишається збільшення площі поверхні і кількості активних сайтів для ефективної взаємодії бактерій з електродами зі збереженням компактності установки. Ці задачі вирішуються використанням об'ємних електродів та/або можливістю модифікації поверхні каталізаторами, що важко реалізувати у випадку сіток з нержавіючої сталі, але можливо досягти з впровадженням вуглецевих матеріалів [5, 6]. В цьому разі сітка з нержавіючої сталі практично завжди використовується як колектор струму від об'ємних вуглецевих електродів [11].

В РМПЕ застосовується широкий набір вуглецевих матеріалів, які умовно можна поділити на: 1) отримані з вуглеводнів або синтетичних волокон і 2) отримані шляхом карбонізації біомаси. Розробки у сфері РМПЕ почалися лише

15 років тому, отже досі багато досліджень присвячено перевірці життєдіяльності цих систем. Як вуглецеві електроди використовують комерційно доступні, переважно, синтетичні матеріали, серед яких найпопулярнішими є графітована повсть, вуглецева тканина, графітові стрижні і пластини, вуглецеві волокна для збірки у формі щіток [1, 2]. Головним недоліком цих матеріалів є висока вартість – мінімум, в 2 рази вища, ніж для нержавіючої сталі, – яка обумовлена хімічно інтенсивним і енерговитратним процесом виготовлення (найчастіше шляхом карбонізації волокон поліакрилонітрилу за температур 800-1500 °С) і робить отримання струму в РМПЕ економічно недоцільним і екологічно невиправданим [5, 6, 12].

Альтернативою вважаються вуглецеві матеріали, отримані з біомаси (рослинних відходів, мулу стічних вод, хітину, шовкових коконів та ін.) в процесі піролізу – безкисневої обробки за температур 300-900 °С. В результаті піролізу отримують монолітну пористу структуру зі збереженням морфології вихідної сировини. Однозначною перевагою таких електродів є нижча вартість через використання дешевої сировини, простішого і менш енергоємного процесу її обробки. Варіації в типі біомаси, способах її попередньої підготовки і температурного режиму піролізу дають змогу отримати матеріали із заданими параметрами, наприклад, з оптимальним для інтенсивного масообміну в товщі електрода розміром пор [5, 6]. Унікальним для вуглецевих електродів з біомаси є природна присутність гетероатомів макро- і мікроелементів як каталітичних центрів окисно-відновних реакцій, вміст яких також можна регулювати підбором сировини і параметрів її обробки. Проте через менший загальний вміст вуглецю провідність піролізного залишку на 2-3 порядки менша, ніж у карбонізованих синтетичних волокон, хоча в цьому разі продуктивність РМПЕ падає приблизно у 3-6 разів і становить ~ 10 мВт/м^2 [12]. Іншим недоліком отримання вуглецевих матеріалів з біомаси є відсутність універсальної технології обробки. Дещо легшим підходом є використання біомаси з розвиненою поверхнею, як каркасу для нанесення тонкого шару високопровідних вуглецевих нанотрубок, вуглецевого або графенового порошку, проте ефективність роботи таких електродів в РМПЕ не досліджено [5].

Повітряні катоди РМПЕ двокамерної конструкції без культивування електротрофних бактерій мають відмінну від біоанодів і біокатодів шарувату будову: шар каталізатора на підкладці з вуглецевої тканини або повсті з гідрофобним газодифузійним шаром політетрафторетилену з боку повітря. Каталізатор щільно прилягає до протонпроникної мембрани з боку анодної камери РМПЕ. Конструкція і матеріали для таких катодів відносно фіксовані, а дослідження спрямовані на оптимізацію кінетики реакції відновлення кисню шляхом пошуку ефективних і доступних каталізаторів [1, 5]. Відмежованість катоду від ґрунтової біоти дає змогу використовувати широкий ряд металічних і синтетичних каталізаторів без вимоги їх біосумісності, але є потреба в розробці дешевих і безпечних для довкілля альтернатив. Зокрема перспективними є каталізатори у вигляді порошку карбонізованої біомаси з природними або додатково введеними гетероатомами. Активність таких каталізаторів подібна або перевищує активність платинових каталізаторів в двокамерних мікробних

паливних елементах з повітряним катодом, що буде справджуватися і для РМПЕ подібної конструкції [5]. Проте найвища потужність таких систем поки перевищує найвищу потужність однокамерних установок лише в близько 2 рази (~ 200 мВт/м^2), що не виправдовує витрат на катіонпроникну мембрану і складний катод [12].

Висновки. За результатом аналізу запропонованих матеріалів електродів в РМПЕ можна підсумувати, що наразі найбільш доцільним матеріалом з точки зору доступності і відповідності технологічним вимогам є сітки з нержавіючої сталі для реалізації у однокамерних і двокамерних РМПЕ з біокатодом. Перспективним є дослідження в РМПЕ електродів, отриманих з біомаси, зокрема створення композитів з високо карбонізованих продуктів її піролізу на біокаркасі з розвиненою поверхнею. Варто приділяти увагу порівняльному аналізу обох груп матеріалів із визначенням їх внеску у вартість одиниці потужності, як основного показника життєздатності технології.

Список використаної літератури:

1. Chiranjeevi P., Yeruva D., Kumar A., et al. Plant-Microbial Fuel Cell Technology. Microbial Electrochemical Technology. 2018. P. 549–564.

2. Maddalwar S., Nayak K., Kumar M., Singh L. Plant microbial fuel cell: Opportunities, challenges, and prospects. Bioresource Technology. 2021. No341.

3. Yan X., Lee H., Li N., Wang X.. The micro-niche of exoelectrogens influences bioelectricity generation in bioelectrochemical systems. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2020. No 134.

3. Wetser K., Sudirjo E., Buisman C., Strik D. Electricity generation by a plant microbial fuel cell with an integrated oxygen reducing biocathode. Applied Energy 2015; 137:151–157.

4.Yang W., Chen S. Biomass-Derived Carbon for Electrode Fabrication in Microbial Fuel Cells: A Review. Ind. Eng. Chem. Res. 2020; 59:6391–6404.

5. Yakoob A., Ibrahim M., Rodríguez-Couto S. Development and modification of materials to build cost-effective anodes for microbial fuel cells (MFCs): An overview. Biochemical Engineering Journal. 2020. No164.

6. Pamintuan K., Sanchez K. Power generation in a plant-microbial fuel cell assembly with graphite and stainless steel electrodes growing Vigna Radiata. IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 2019. No 703.

7. Widharyanti I., Hendrawan M., Christwardana M. Membraneless Plant Microbial Fuel Cell using Water Hyacinth (Eichhornia crassipes) for Green Energy Generation and Biomass Production. International Journal of Renewable Energy Development,. 2020; 10:71–78.

8. Angelidis N., Wei C., Irving P. The electrical resistance response of continuous carbon fibre composite laminates to mechanical strain. Composites Part A: Applied Science and Manufacturing. 2004; 10:1135–1147.

9. Gabhi R., Kirk D., Jia C. Preliminary investigation of electrical conductivity of monolithic biochar. Carbon. 2017; 116: 435–442.

10. Khudzari J., Gariepy Y., Kurian J., et al. Effects of biochar anodes in rice plant microbial fuel cells on the production of bioelectricity, biomass, and methane. Biochemical Engineering Journal. 2019; 141:190–199.

11. Bezzola G. Integration of a microbial fuel cell into a green wall for greywater treatment. Wädenswil: Zürcher Hochschule für angewandte Wissenschaften. 2022. 40 p.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛАСТІВЦІВ АКТИВНОГО МУЛУ В ПРИРОДОЗАХИСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЯХ

Ткаченко С.О., Юрченко В.О.
Харківський національний університет міського господарства імені О.М. Бекетова, tkachenkosvetlana98@gmail.com, yurchenko.valentina@gmail.com

Вступ. Життєдіяльність активного мулу в установках біологічного очищення стічних вод забезпечує сорбцію та руйнування забруднювальних речовин із стічних вод та ефективне відділення очищеної рідини від біомаси. Здатність активного мулу утворювати швидко осідаючі пластівці є однією з ключових характеристик, що використовують для організації процесу біологічного очищення стічних вод в системах аеротенк-вторинний відстійник [1]. Утворення пластівців пояснюється присутністю в мікробіоценозі активного мулу бактерій, що виділяють біополімери-флокулянти, які зв'язують окремі клітини в агрегати (флоки), що здатні збільшуватися і відокремлюватися від рідини, що обробляється. Активність цього процесу залежить від ряду факторів, включаючи видовий склад мікрофлори та мікробіоти, кисневих умов, фізико-технічних параметрів тощо [1, 2]. Технологічний контроль біологічних очисних споруд, включаючи визначення характеристик осідання активного мулу, дає змогу підвищити ефективність та надійність такої технології захисту природних водойм.

Управління седиментаційною здатністю активного мулу включає методи оцінки стану активного мулу шляхом контролю морфології флоку (розмір, структура, щільність і форма) та популяції нитчастих мікроорганізмів. Відповідно до цих показників Д. Ейкельбум [2] поділив активний мул за якістю на добрий, середній та бідний (табл.1). Проте в діагностиці активного мулу, запропонованій Д. Ейкельбумом, такі важливі показники його якості, як структура, міцність та форма, характеризуються не кількісно, а лише якісно, що надзвичайно утруднює їх практичне використання на діючих очисних спорудах.

Таблиця 1. Критерії для встановлення якості активного мулу (за Eikelboom D.)

Показники/Якість	Добрий	Задовільний	Бідний
Структура пластівців	компактна	відкрита	-
Міцність пластівців	щільна	слабка	-
Форма пластівців	кругла	неправильна	-

Деякі з цих морфологічних показників використовують для моніторингу стану активного мулу в технологічному контролі процесів очистки на очисних спорудах в Україні. Проте визначення цих характеристик здійснюється лише якісно, візуально, а їх оцінка носить суб'єктивний характер.

Методика кількісного визначення морфологічних характеристик активного мулу необхідна в дослідженнях та випробовуваннях ефективності різних технологічних заходів щодо поліпшення якості пластівців активного мулу на

біологічних очисних спорудах. Наприклад, у науково-технічній літературі є повідомлення про позитивний вплив іонів Mg^{2+} на властивості флоків активного мулу в мембранних біологічних реакторах (МБР) та зменшення активності налипань на мембранах у разі додавання солей цього лужно-земельного металу в стічні води, що оброблюються [4, 5]. Вплив іонів Mg^{2+} у цих дослідженнях контролювали за величиною швидкості забруднення мембран, яку розраховували за мембранним опором. Натомість, морфологічні властивості активного мулу в МБР не контролювали.

Сучасні біотехнології захисту навколишнього середовища потребують складного комплексного контролю процесу із залученням хімічних, гідробіологічних, біохімічних та інших методів, необхідних, в першу чергу, для управління активними мікробіоценозами. Необхідно, щоб ці методи були експресними, придатними для автоматизації та аналізу великої кількості проб, а їх показники – кількісними, придатними до використання в математичному моделюванні.

Метою роботи є розробка комп'ютеризованої методики кількісної оцінки технологічних властивостей пластівців активного мулу (площі, форми і структури) та її апробація в експериментальних дослідженнях за впливу додавання сульфату магнію в середовище.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження був активний мул з аеротенку міських біологічних очисних споруд (м. Харків).

Для комп'ютеризованої методики кількісного визначення технологічних характеристик активного мулу використали обробку мікрофотознімків мулу в програмному продукті ImadgeJ, що обробляє зображення, робить арифметичні операції та геометричні перетворювання. Результатом розрахунку програми були такі показники: площа пластівців та їх розмір (зазвичай розуміють діаметр, а для частинок неправильної форми використано середній проектований діаметр, мкм), структура (за змістом, вкладеним Д.Ейкельбумом, найбільш підходить показник a' – відношення довжини частинки до її проектованого діаметру), округлість. Чим ближче a' до 1, тим компактніша частинка. Округлість характеризували через коефіцієнт округлості Circ, який в програмі визначається за формулою:

$$\mathrm{Circ} = \frac{4\pi S_{П}}{P^2}$$

де Sп – площа проекції сферичної частинки, мкм^2;

P – периметр, мкм.

Чим ближче значення коефіцієнта округлості до нуля, тим менш округла форма пластівців.

Фотографування мікроскопічних зображень мулу виконували за збільшення в 100-150 разів під час мікроскопування збовтаних проб мулу з використанням біологічного мікроскопу Ломо Мікмед-1. Для масштабування розміру пластівців для подальших досліджень паралельно виконували прямі вимірювання розміру деяких пластівців за допомогою окуляра-мікрометра. Для кожного варіанту досліду обробляли не менше 10 мікрофотознімків.

Провели лабораторне дослідження впливу іонів Mg^{2+} на властивості пластівців активного мулу в контролі морфології пластівців за допомогою розробленої комп'ютеризованої методики. В зразки мулової рідини (100 $см^3$) додавали аліквоту розчину сульфату магнію для збільшення за розрахунком концентрації Mg^{2+} на 2 та 4 мг/л у варіантах досліду. Потім мулову суміш аерували і через 1 годину відбирали зразки для мікроскопування та дослідження геометричних та морфологічних характеристик пластівців активного мулу.

Результати та обговорення. Результати досліджень представлено на рисунку 1 та в таблиці 2. Як видно з даних на рисунку 1, у разі збільшення вмісту іонів Mg^{2+} з 9 до 13 мг/л спостерігали збільшення розмірів пластівців. Як видно з даних таблиці 2, у разі додавання Mg^{2+} в мулову суміш морфологічні та геометричні показники пластівців активного мулу змінювались. Спостерігається чітка тенденція зменшення округлості (за збільшення від 9 мг/л до 13 мг/л – на 45 %), що є негативною зміною.

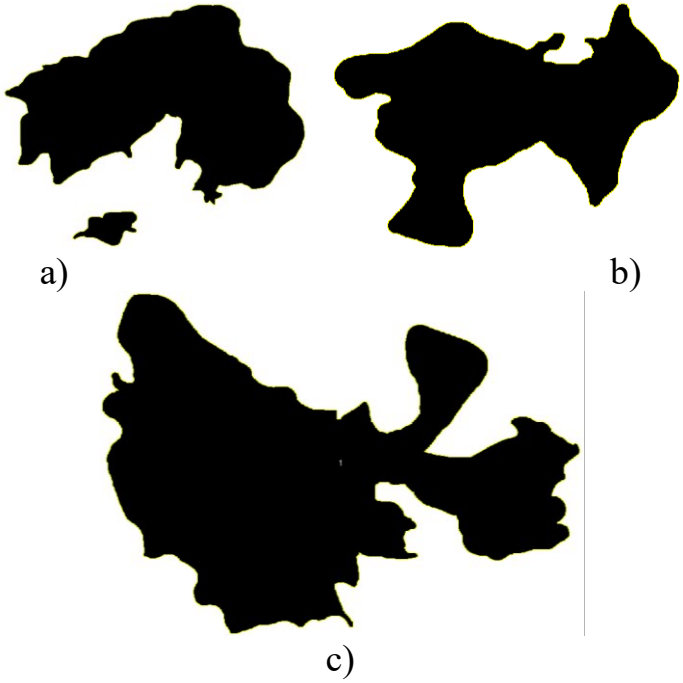


Рис 1. Дослідження властивостей пластівців активного мулу при вмісті Mg^{2+}: a) 9 мг/л; b) 11 мг/л; c) 13 мг/л

Таблиця 2. Вплив додавання солей Mg^{2+} на геометричні та морфологічні характеристики пластівців активного мулу, які визначені за допомогою розробленої методики

Вміст Mg^{2+} в середовищі, мг/л	Геометричні показники		Морфологічні показники	
	Площа ($S_П$), $мкм^2$	Розмір (dn) мкм	Округлість	Структура (*a'*)
9	89,31	23,66	0,68	1,40
11	104,76	24,95	0,58	1,34
13	209,35	37,16	0,47	1,52

Визначено, що розміри пластівців із збільшенням вмісту магнію в муловій рідині зростали, причому особливо радикально у разі переходу від вмісту Mg^{2+} від 11 мг/л до 13 мг/л. Імовірно, що зміни вмісту Mg^{2+} у діапазоні від 9 мг/л до 11

мг/л не суттєво впливали на досліджені характеристики пластівців активного мулу. Структура пластівців у другому варіанті досліду покращилась (значення *a'* зменшилось), проте в третьому варіанті у разі збільшення вмісту Mg^{2+} у муловому середовищі до 13 мг/л значення *a'* збільшилось (порівняно з *a'* за 9 мг/л) на 9 %. Отже, структура дещо погіршилась, що кореспондується з погіршенням коефіцієнта округлості.

Можна стверджувати, що додавання солей сульфату магнію (розглядаємо перший та третій варіанти – вміст Mg^{2+} 9 мг/л та 13 мг/л) дещо погіршувало округлість пластівців та їх структуру, проте набагато збільшувало лінійні розміри (на 57 %) і надзвичайно збільшувало площу пластівців (на 135 %). Імовірно, що за термін експозиції мулової рідини протягом експерименту (1 год) пластівці збільшились, проте не встигли ущільнитись та сформувати більш компактну форму і структуру.

Висновки. За результатами дослідження можна зробити такі висновки:

- розроблений метод кількісної оцінки технологічних характеристик пластівців активного мулу дає змогу кількісно охарактеризувати технологічні показники (розмір, площа, округлість, структура), які раніше визначали лише якісно шляхом візуального спостереження. До того ж, розроблена комп'ютеризована методика кількісного визначення технологічних характеристик пластівців активного мулу дає змогу значно деталізувати та уточнити результати візуальних оцінок;

- за допомогою розробленої комп'ютеризованої методики доведено позитивний вплив додавання солей Mg^{2+} на геометричні характеристики активного мулу. Дослідження показали, що у разі збільшення вмісту Mg^{2+} в муловій рідині на 4 мг/л до 13 мг/л спостерігалося зменшення округлості пластівців (на 45 %), незначне (на 9 %) погіршення структури, проте відбувалося збільшення лінійних розмірів (на 57 %) та надзвичайне збільшення (на 135 %) площі пластівців.

Список використаної літератури:

1. Karczmarczyk A., Kowalik W. Combination of microscopic tests of the activated sludge and effluent quality for more efficient on-site treatment. *Water.* 2022. Vol. 14, no. 3. P. 489. URL: https://doi.org/10.3390/w14030489 (date of access: 01.05.2023).

2. Eikelboom D. H. Process control of activated sludge plants by microscopic investigation. London : IWA Pub., 2000. 156 p.

3. Wanner J. Activated sludge bulking and foaming control. Lancaster, PA : Technomic Pub., 1994. 327 p.

4. Qiblawey H., Judd S. Industrial effluent treatment with immersed MBRs: treatability and cost. *Water science and technology.* 2019. Vol. 80, no. 4. P. 762–772. URL: https://doi.org/10.2166/wst.2019.318 (date of access: 28.04.2023).

5. Arabi S., Nakhla G. Impact of cation concentrations on fouling in membrane bioreactors. *Journal of membrane science.* 2009. Vol. 343, no. 1-2. P. 110–118. URL: https://doi.org/10.1016/j.memsci.2009.07.016 (date of access: 28.04.2023).

МЕТОДИ ПОПЕРЕДНЬОЇ ОБРОБКИ ОСАДІВ СТІЧНИХ ВОД

Філоненко О.О., Жукова В.С.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, filonenko.oleksandra@lll.kpi.ua

Вступ. В процесі біологічного очищення стічних вод утворюється велика кількість осаду, а саме надлишковий активний мул. Такий осад може містити токсичні речовини, хвороботворні мікроорганізми, важкі метали та деякі органічні забруднення, що створює неприємні запахи. Неналежне використання та утилізація осаду стічних вод спричиняє серйозний вплив на навколишнє середовище та загрозу здоров'ю населення. Станції очищення стічних вод стикаються з економічними та екологічними обмеженнями не лише через дедалі суворіші правила, але й через збільшення кількості утвореного осаду стічних вод. Зазвичай 40-50% загальних експлуатаційних витрат припадає на стадію утилізації осаду. Таким чином, просування економічно доцільних методів обробки осаду є одним з важливих завдань для енергоефективного управління відходами [1].

В даний час на практиці застосовано кілька методів утилізації осаду стічних вод, наприклад захоронення відходів, компостування, сушіння-спалювання, анаеробне зброджування та переробка на будівельні матеріали [2]. Серед них анаеробне зброджування є перспективним для обробки осаду стічних вод, оскільки цей спосіб сприяє видаленню запахів та хвороботворних мікроорганізмів, стабілізації осаду і, що більш важливо, дає змогу отримати відновлювану енергію у вигляді метану. Це може покрити частину енергетичних потреб для обробки осаду стічних вод або, певною мірою, зменшити залежність людини від викопного палива. З цих причин анаеробне зброджування осаду знижує експлуатаційні витрати на очисні споруди [3].

Метою даної роботи є аналіз існуючих методів попередньої обробки стічних вод, які допомагають оптимізувати анаеробне зброджування та збільшити вихід біогазу.

Матеріали та методи. Здійснено аналіз літературних джерел, присвячених дослідженню методів попередньої обробки осадів стічних вод. Осад було отримано від вторинних відстійників та аеротенків міських очисних споруд. Під час випробувань об'єм і склад утвореного біогазу у реакторах реєстрували щодня протягом першого тижня та кожні наступні 2–5 днів. Випробування тривали 50 днів, доки щоденне утворення метану протягом трьох послідовних днів не становило <1% від накопиченого об'єму метану. Вміст метану в експериментах визначали за допомогою газової хроматографії. Ефективність гідролізу кількісно оцінювали за допомогою відношення ΔХПК/ЗХПК, де ΔХПК - різниця між початковою та кінцевою хімічною потребою в кисні, а ЗХПК - початкова загальна хімічна потреба в кисні для осадів.

Результати та обговорення. Анаеробне зброджування включає серію етапів, тобто гідроліз, ацидогенез (ферментація), ацетогенез і метаногенез. В дослідженнях встановлено, що гідроліз є обмежувальним етапом анаеробного зброджування осаду стічних вод через складну структуру пластівців, таких як позаклітинні полімерні речовини і тверду клітинну стінку, що призводить до

тривалого часу утримування, низької ефективності розпаду органічних речовин і низького виходу метану [4,5].

Щоб прискорити гідроліз і підвищити подальшу продуктивність метану були розроблені різноманітні варіанти попередньої обробки осаду, такі як механічні, термічні, хімічні, біологічні процеси або їх інтеграція. Основна мета попередньої обробки полягає в тому, щоб порушити матрикс позаклітинних полімерних речовин і клітинну стінку, а також зробити наявні поживні речовини доступними для мікроорганізмів, таким чином прискоривши перетворення органічних твердих речовин і збільшивши продуктивність метану. У разі правильного планування попередня обробка може сприяти вивільненню внутрішньоклітинних речовин шляхом розриву клітинної стінки та зробити їх більш доступними для наступних етапів.

В сучасних дослідженнях описано такі механічні методи.

- Ультразвукова попередня обробка. Процес зазвичай здійснюється в спеціальних реакторах, які містять ультразвукові емітери. Осад розміщують у реакторі, де він піддається впливу високочастотних ультразвукових хвиль. Ультразвукові хвилі створюються за допомогою п'єзоелектричного кристала, який знаходиться в емітері. У разі зміни електричного поля на кристалі відбувається зміна розміщення його атомів, що приводить до виходу ультразвукових хвиль. Результатом ультразвукової обробки є зменшення розміру частинок осаду та збільшення їх поверхні, що поліпшує доступність поживних речовин для анаеробної переробки [6,7].
- Мікрохвильове опромінення. Така обробка зазвичай здійснюється у спеціальних реакторах, які містять мікрохвильовий генератор та систему охолодження. Осад розміщують у реакторі, де він піддається впливу мікрохвильового випромінювання. Мікрохвильове випромінювання здійснюється за допомогою мікрохвильового генератора, який створює електромагнітні хвилі з частотою близько 2450 МГц. Результатом обробки є зниження вмісту вологи в осаді (за рахунок температурити та випаровування), зменшення розміру частинок, що поліпшує доступність поживних речовин для анаеробної переробки. Обробка також сприяє руйнуванню клітинних стінок бактерій та інших мікроорганізмів, що полегшує доступ метаногенних бактерій до поживних речовин. Крім того, цей метод забезпечує більш однорідний розподіл температури в осаді, що зменшує енергетичні витрати на нагрівання [8].
- Електрокінетичний розпад. Під впливом електричного поля на поверхні частинок осаду виникає заряд, що сприяє їх дисперсії та розриванню структур бактерій. Цей метод може бути застосований як самостійний, але частіше він використовується в поєднанні з іншими методами, такими як ультразвукова та термічна обробка, для підвищення ефективності процесу [9].
- Гомогенізація під дією високого тиску. У цьому процесі осад піддається впливу високого тиску, створеного високошвидкісними струменями води або іншого розчину. При цьому частинки осаду руйнуються і розбиваються на більш

дрібні, що сприяє покращенню їх змішування з рідиною, зниженню в'язкості та збільшенню поверхні взаємодії з мікроорганізмами під час подальшої обробки. Гомогенізація під дією високого тиску може проводитися за допомогою різних пристроїв, таких як гідродинамічні гомогенізатори, високотискні помпи з різними насадками або високотискні камери. Цей метод може бути застосований окремо або в поєднанні з іншими методами попередньої обробки [10].

Також окремо досліджують термічний гідроліз. Під час термічного гідролізу осад змішується з водою, що може бути нагріта до температури від 120 до 200°С, і піддається тиску від 200 до 600 КПа. Такий процес приводить до розкладу складних органічних речовин на більш прості молекули. В цьому процесі утворюються кислоти, аміни та інші речовини, які забезпечують додаткове джерело поживних речовин для бактерій в анаеробному перетворенні. Термічний гідроліз може покращити перетворення осаду на біогаз на 20-40%. Цей метод також допомагає знизити кількість патогенних бактерій, збільшити стійкість до забруднень та підвищити якість осаду [11].

До методів хімічної обробки належить:

- Попередня обробка кислотою та лугом. Кислотна обробка осаду включає в себе додавання кислоти для зниження pH та розчинення органічних речовин. Основними кислотами, які використовуються для цього, є сірчана та хлороводнева кислоти. Цей процес може привести до розчинення частини органічних речовин та поліпшення їх біологічної доступності. Обробка осаду лугом передбачає додавання розчину лугу для підвищення pH. Лугові розчини зазвичай містять натрій або калій гідроксиди. Підвищення pH приводить до гідролізу біомаси та розкладу складних органічних сполук на більш прості. Це також може підвищити біологічну доступність органічних речовин. Обидва методи можуть бути використані як окремо, так і в поєднанні з іншими методами попередньої обробки [12].
- Озонування. Під час озонування газова форма озону вводиться в осади, де вона взаємодіє з біологічними макромолекулами, такими як білки, жири та целюлоза. Ця реакція викликає окислення та розкладання органічних сполук в осадах, що зменшує їх концентрацію та підвищує біологічну доступність органічних речовин. Окрім того, озон має сильні дезінфікуючі властивості, що дають змогу знизити кількість бактерій, вірусів та інших мікроорганізмів у осадах. Також відбувається дезодорація, тобто зниження запаху у осадах [12].

Проводять також дослідження і біологічних методів, окрім відомого ферментативного гідролізу також вивчають поетапне анаеробне зброджування, яке поєднує термофільну установку попередньої обробки перед мезофільним анаеробним зброджуванням. Такий процес також складається з трьох етапів: гідроліз, ацетогенез і метаногенез, кожен з яких відбувається за різних температур. На першому етапі, гідролізу, температура підтримується на рівні 70-80 °С, що сприяє розкладанню складних органічних сполук на більш прості. Далі, на другому етапі, ацетогенезі, температура знижується до 55-60 °С, що сприяє перетворенню простих органічних сполук на ацетат та інші

коротколанцюгові жирні кислоти. На третьому етапі, метаногенезі, температура знижується до 35-37 °С, що сприяє утворенню метану [13].

Висновки. Отже, на даний момент повільний гідроліз залишається значним обмеженням в процесі енергоефективного зброджування осаду стічних вод. Саме тому проводять дослідження різних методів попередньої обробки, щоб прискорити швидкість гідролізу осаду та підвищити ефективність анаеробного зброджування. На даний момент найбільш вивченими та впровадженими є механічні, термічні та хімічні процеси. Розглянуто особливості цих методів та їх вплив на подальший перебіг процесів анаеробного зброджування. Водночас, дослідження біологічних методів не є вичерпними і потребують більше уваги, щоб перейти від лабораторних експериментів до обробки осаду на реальних спорудах.

Список використаної літератури:

1. Appels L, Baeyens J, Degreve J, Dewil R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. Prog Energy Combust 2008;34:81-755.
2. Lesław Świerczek, Bartłomiej Michał Cieślik, Piotr Konieczka, The potential of raw sewage sludge in construction industry – A review, Journal of Cleaner Production 2018; 200:342-356.
3. Li, C., Li, Y., Cheng, Z., Li, Y., & Liu, Y. Anaerobic digestion of waste activated sludge: A review on the recent developments. Bioresource Technology 2019;291.
4. Abelleira-Pereira JM, Perez-Elvira SI, Sanchez-Oneto J, de la Cruz R, Portela JR, Nebot E. Enhancement of methane production in mesophilic anaerobic digestion of secondary sewage sludge by advanced thermal hydrolysis pretreatment. Water Res 2015;71:40-330.
5. Zhen GY, Lu XQ, Li YY, Zhao YC. Combined electrical-alkali pretreatment to increase the anaerobic hydrolysis rate of waste activated sludge during anaerobic digestion. Appl Energy 2014;128:93–102.
6. Harris PW, McCabe BK. Review of pre-treatments used in anaerobic digestion and their potential application in high-fat cattle slaughterhouse wastewater. Appl Energy 2015;155:75-560.
7. Tiehm A, Nickel K, Zellhorn M, Neis U. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. Water Res 2001;35:9-20.
8. Elagroudy S, El-Gohar F. Microwave Pretreatment of Mixed Sludge for Anaerobic Digestion Enhancement. Int J Therm Environ Eng 2013;5:11–105.
9. Krzemieniewski M, Zieliński M, Dębowski M. Technology of electrokinetic disintegration of virginia fanpetals (sidahermaphrodita) biomass in a biogas production system. Int J Energy Power Eng 2016;3:759.
10. Carrere H, Antonopoulou G, Affes R, Passos F, Battimelli A, Lyberatos G, et al. Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: from lab-scale research to full-scale application. Bioresour Technol 2016;199:-97-386.
11. Neyens E, Baeyens J. A review of thermal sludge pre-treatment processes to improve dewaterability. J Hazard Mater 2003;98:51–67.
12. Zhen, G., Lu, X., Kato, H., Zhao, Y., & Li, Y.-Y. Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: Current advances, full-scale application and future perspectives. Renewable and Sustainable Energy Reviews 2016; 69: 559–577.
13. Lv W, Schanbacher FL, Yu ZT. Putting microbes to work in sequence: recent advances in temperature-phased anaerobic digestion processes. Bioresour Technol 2010;101:14-94.

Секція 3

БІОТЕХНІКА. ОБЛАДНАННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ТА БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ. УЛЬТРАЗВУК В БІОТЕХНОЛОГІЇ

Section 3

BIOTECHNICS. EQUIPMENT OF PHARMACEUTICAL AND BIOTECHNOLOGICAL INDUSTRIES. ULTRASOUND IN BIOTECHNOLOGY

ЕНЕРГОЕФЕКТИВНИЙ СПОСІБ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО КОМПЛЕКСУ ПРИ ПЕРЕРОБЦІ ГРИБА ШИЇТАКЕ

Авдєєва Л.Ю., Декуша Г.В., Турчина Т.Я., Козак М.М.
Інститут технічної теплофізики НАН України, tbds_ittf@ukr.net

Вступ. В останнє десятиліття на світовому споживчому ринку продуктів харчування динамічно зростає попит на суперфуди – продукти рослинного походження з високою концентрацією певних поживних речовин, що сприяють активізації захисних сил організму. Серед всього різноманіття суперфудів унікальними оздоровчими властивостями вирізняються делікатесні гриби Південно-Східної Азії – шиїтаке. Завдяки природному комплексу біологічно активних речовин гриби проявляють виражену онкостатичну, імуномоделюючу, гепатопротекторну та антивірусну дії [1, 2].

Актуальність теми. Підвищений інтерес до лікувальних властивостей гриба призвів до його активного попиту та збільшення обсягів вирощування в Україні (ТОВ «Фунготерра», ТОВ «Есмаш», ТОВ “Ніко Агро Холдінг”).

За хімічним складом шиїтаке (10–11 % сухих речовин) характеризується досить збалансованим складом незамінних амінокислот з домінуванням лізину, лімітуючими і амінокислоти є триптофан і метионін. Серед ліпідів 70% припадає на поліненасичені жирні кислоти, а мінеральні речовини багаті на калій, фосфор та селен. До складу гриба входять вітаміни групи В, $Д_2$, Е, ряд фенольних сполук. Однак, найбільшу цінність у шиїтаке представляє його вуглеводна складова, яка містить фармакологічно активні 1,3/1,6-β-глюкани, що зв’язані в хітин-глюкановому комплексі клітинної стінки гриба. Їх біологічна активність проявляється в м’якій стимуляції імунної системи людини. Серед них найбільш відомим є лентинан – 1,3-β-глюкан з β-1,6-розгалуженням (500 кДа) [2, 3].

Більшість сучасних технологій переробки шиїтаке передбачають виділення лише незначної частини фармакологічно активних речовин, як правило, окремих компонентів полісахаридного комплексу. Однак, в клітинній оболонці вони знаходяться в хімічно зв’язаному стані як з хітином, так і з розташованими на зовнішній поверхні стінки манопротеїнами. Клітинні оболонки шиїтаке характеризуються надзвичайною жорсткістю, тому для вилучення біологічно активного комплексу полісахаридів з грибів сьогодні в світі найчастіше застосовують багаторівневі хімічні методи обробки і складне енерговитратне обладнання [3]. При цьому втрачається значна частка цінного потенціалу гриба, яка може бути використана для виробництва продуктів з підвищеним вмістом доступних полісахаридів та інших корисних речовин в харчовій та фармацевтичній промисловості. Тому розроблення нових високоефективних способів обробки і енергозберігаючого обладнання для комплексної безвідходної переробки плодового тіла гриба шиїтаке із врахуванням його унікального складу та властивостей є актуальною і складною науковою і технічною проблемою.

Вирішення поставленої проблеми полягає у застосуванні ефективних методів обробки для інтенсифікації гідромехнічних і тепломасообмінних процесів при переробці гриба шиїтаке, що дасть можливість створення промислових

енергозберігаючих технологій виробництва харчових продуктів та добавок з підвищеним вмістом доступних полісахаридів.

Мета роботи – дослідження ефективності застосування інтенсивних методів впливу на грибну сировину для її подальшого використання у продуктах харчування оздоровчої дії у сухій порошковій формі.

Матеріали і методи. Свіжі плодові тіла базидіального гриба шиїтаке згідно з ТУ 01.1-16304966-047-2002. Масову частку сухих речовин визначали згідно з ДСТУ 7804:2015; білка – згідно з ДСТУ 7824:2015; жирів – згідно з ДСТУ 4941:2008; золи – згідно з ДСТУ ISO 2171:2009. Дисперсний склад суспензій гриба визначали за допомогою електронного мікроскопа «МБІ 3У 4.2» з одночасною мікрофотозйомкою зразків за допомогою цифрового фотоапарату. Вміст комплексу полісахаридів в зразках визначено за методикою, розробленою в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України [4].

Результати та обговорення.

Одним з перспективних методів, який застосовується для інтенсифікації гідромеханічних процесів при обробленні різноманітних гетерогенних систем є дискретно-імпульсний метод введення енергії (ДІВЕ). За рахунок сумарної дії одночасного або послідовного виникнення таких фізичних впливів і теплофізичних ефектів, як нагнітання і скидання тиску в дисперсному рідинному середовищі, адіабатичного скипання, кавітаційних ефектів, кумулятивного впливу, гідравлічного удару, інтенсивного зсувного напруження і турбулізації потоку метод ДІВЕ характеризується високою ефективністю при використанні у процесах диспергування, гомогенізації, екстрагування і емульгування різноманітних гетерогенних систем [5, 6]. Обладнання, в якому реалізовані механізми ДІВЕ характеризуються невисокою металомісткістю, низькими питомими енерговитратами та інтенсивним ступенем впливу при обробці складних гетерогенних систем, відрізняються високим ККД, простотою конструкції і тривалістю безперервної роботи [5, 6].

Проведені нами дослідження процесу диспергування та гомогенізації плодового тіла гриба шиїтаке із застосуванням різних типів обладнання (клапанні гомогенізатори, колоїдні млини і роторно-пульсаційні апарати (РПА)) показали, що збільшення тривалості гомогенізації, а також попередня термічна обробка сприяють підвищенню інтенсивності впливу на тверду фазу і отриманню високої дисперсності частинок, що є важливою умовою для подальшої подачі отриманої грибної суспензії на розпилювальне сушіння, але не завжди покращують реологічні властивості цих систем. Застосування РПА, в яких реалізований метод ДІВЕ, підтвердило високу ефективність диспергування і гомогенізації вихідної сировини [7].

Проведені дослідження мікроструктури гриба підтвердили те, що ніжки та шапинки гриба шиїтаке відрізняються за своєю будовою та структурою клітин в тканинах. Тканини ніжок представляють собою волокна гіфів високої міцності за рахунок більшого вмісту хітин-глюканового комплексу в стінках клітин. Через таку особливість будови клітин, ніжки грибів шиїтаке в результаті диспергування подрібнюються не в достатній мірі, що вимагає посилення гідромеханічного впливу або збільшення тривалості обробки суспензії.

Запропонована ДІВЕ-обробка призвела до утворення фрагментів тканин і агломератів клітин видовженої форми шириною приблизно 5 мкм і довжиною від 150 мкм до 3000-5000 мкм і більше. В суспензії, утвореній в результаті ДІВЕ-обробки шапинок гриба шиїтаке, середній розмір нерозчинних частинок був набагато меншим і знаходився в діапазоні 100-150 мкм. Вказані розміри частинок нерозчинних фракцій шапинок гриба в суспензії досягались після трьох циклів її ДІВЕ-обробки. Застосування більше 3-х циклів було недоцільним, оскільки призводило до підвищення в'язкості грибної суспензії на 5-10% із незначним впливом на розмір частинок дисперсних систем. Це можна пояснити збільшенням кількості вилучених із структурних систем гриба білків і полісахаридів, що сприяли процесу гелеутворення.

Результати досліджень також свідчать про доцільність використання апаратів ДІВЕ для підвищення доступності комплексу біологічно активних полісахаридів грибів шиїтаке, яка збільшилась втричі з 3% до 9% порівняно з нативним грибом.

Отримана грибна суспензія була передана для визначення можливості її сушіння методом розпилювання.

Висновки. Гриб шиїтаке в перерахунку на суху масу містить значну кількість вуглеводів (майже 75 %), до складу яких входять активні комплекси речовин імуностимулюючої та протипухлинної дії, до 19 % білків, ліпіди з переважнмим вмістом лінолевої та ліноленової жирних кислот та велику кількість макро- та мікроелементів.

Доведено ефективність застосування апаратів ДІВЕ при диспергуванні і гомогенізації плодового тіла гриба шиїтаке і дозволило підвищити доступність біологічно активних полісахаридів в 3 рази у порівнянні зі свіжим плодовим тілом гриба (з 3% в нативних грибах до 9% в сухому порошку, в перерахунку на суху речовину).

Список використаної літератури:

1. Stachowiak B., Regula J. Health-promoting potential of edible macromycetes under special consideration of polysaccharides: a review. European Food Research and Technology. 2012. № 234 (3). P. 369–380.

2. Zhang Y., Li S., Wang X., Zhang L., Cheung P.C.K. Advances in lentinan: isolation, structure, chain conformation and bioactivities. Food Hydrocolloids. 2011. № 25 (2). P. 196–206.

3. Avdieieva L.Y., Zhukotskyi E.K., Dekusha H.V., Ivanov S.O. Analysis of current ways and features of shiitake mushroom drying Food science and technologies. 2021. № 3. P. 94–107.

4. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре : в 2 т. / под ред. С. П. Вассера. Киев, 2012. Т. 2 459 с.

5. Долинский А.А. Иваницкий Г.К. Тепломассообмен и гидродинамика в парожидкостных диспресных середах. Київ: Наукова думка, 2008. 382 с.

6. Микро- и наноуровневые процессы в технологиях ДИВЭ: темат. зб. статей / под общ. Ред. А.А. Долинского; И-т технической теплофізики НАН Украины. Академпериодика, 2015. 464 с.

7. Turchyna T., Zhukotskyi E., Avdieieva L., Dekusha H. Regulation of structural and mechanical properties of shiitake mushroom suspension as an object of drying. Food science and technology. 2021. Vol. 15. Issue 2. P. 133–142.

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF ULTRAVIOLET RADIATION ON BACTERIAL CELLS AND THEIR BIOSYNTHETIC ACTIVITY

Bachynska Y., Lutsenko T.
Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, bachynska-bf01@lll.kpi.ua

Introduction. Ultraviolet radiation is the only key component of solar radiation that can have a significant impact on living organisms. It is well known that a certain amount of ultraviolet light can be beneficial for organisms, but too large doses can be harmful. In this context, the study of the effect of ultraviolet radiation on bacteria and their biosenetic effect is an urgent problem in modern science.

The purpose of this work is to study the impact and consequences of ultraviolet radiation on bacterial cells, as well as their biosenetic effect. As part of the study, different doses of ultraviolet radiation and their effect on the growth and development of bacteria, as well as on their biosenetic activity, were studied. The results of this study can help in understanding the impact of ultraviolet radiation on living organisms, as well as in clarifying the possibilities of using bacteria for the biosynthesis of various useful substances.

Materials and methods. Analytical review of the latest foreign research and publications on: the effect of ultraviolet radiation on bacterial cells, as well as their biosenetic effect.

Different strains of bacteria with different biosenetic properties (Escherichia coli, Micrococcus radiodurans), spectral lamps with different wavelengths, dosimeters for measuring the intensity of radiation, and a spectrophotometer for measuring the optical density of bacterial cultures are used in the studied scientific works. [1,2]

Results and discussion. Ultraviolet radiation – is electromagnetic radiation invisible to the human eye, occupying the spectral region between visible and X-ray radiation. Depending on the wavelength, the ultraviolet spectrum is divided into three areas (ranges): UVA, UVB and UVC. The greatest bactericidal effect is characteristic of the UVC range, with a peak at approximately 260–265 nm [3].

According to the results of the study, it was established that the main role of the effect of UV radiation on cells belongs to chemical changes in DNA: pyrimidine compounds, (mainly thymine), during the absorption of quanta of UV radiation, form dimers that prevent the normal doubling (replication) of DNA by cell preparation for division. Damage to biological membranes and disruption of the synthesis of their various components and the cell membrane also play a role in the lethal effect of radiation on cells. [4].

Biological objects differ greatly in their sensitivity to UV radiation. For example, the dose of UV radiation, which leads to the death of 90% of cells, for different strains of Escherichia coli is equal to 10, 100 and 800 erg/mm², and for bacteria Micrococcus radiodurans — 7,000 erg/mm². The sensitivity of cells to UV radiation, to a large extent, also depends on their physiological state and conditions of cultivation before and after irradiation (temperature, composition of the nutrient medium, etc.). Mutations of some genes greatly affect the sensitivity of cells [5].

In addition to DNA and RNA, photochemical processes can occur in proteins, enzymes and other biological molecules. It was found that upon absorption of UV, the

release of amino acids from protein and enzymes become unstable. If the dissociative energy for the disulfide bond is reached, the tertiary structure of amino acids changes, which, in turn, leads to a change (denaturation) of biomolecules. The molecule loses its biological activity and ability to be removed. Since the concentration of protein in bacteria is very high (50% of dry weight), UV absorption affects their role in the synthesis of nucleic acid and chromosomal structure [4,6].

UV radiation can also have an impact on other biological substances that contain unsaturated bonds, such as coenzymes, hormones, and electron carriers, in addition to DNA, proteins, and enzymes. These substances can be deactivated or damaged by exposure to UV radiation. The genetic consequences of ultraviolet irradiation of bacteria are expressed in an increase in the mutation frequency of genes, chromosomes, and plasmids. The frequency of mutation of individual genes under the influence of high doses of UV radiation can increase thousands of times compared to the natural level and reach several percent [6].

Escherichia coli has several defense mechanisms against UV radiation, including the nucleotide excision repair (NER) system and the photolyase system.

The NER system in Escherichia coli is responsible for detecting and repairing UV-induced DNA damage. This system works with the help of different proteins that detect and remove certain types of DNA damage. The photolyase system in Escherichia coli allows bacteria to repair damage caused by ultraviolet radiation, thanks to a unique protein complex that performs photocontrol [1,4]. Micrococcus radiodurans has a very high resistance to ultraviolet radiation due to its unique defense mechanisms. One of the main protective mechanisms is DNA repair [2].

Conclusions. Studies have shown that UV radiation affects cells, particularly their DNA, causing chemical changes. When pyrimidine compounds, mainly thymine, absorb quanta of UV radiation, they form dimers that prevent normal DNA replication as the cell prepares to divide. This can lead to the death of cells or changes in their hereditary properties (mutations). Damage to biological membranes and disruption of the synthesis of their components also have a certain significance in the lethal effect of radiation on cells.

References:

1. Singh, R., Singh, D., & Parihar, R. S. (2015). Effect of ultraviolet radiation on Escherichia coli and its recovery using nutrient rich media. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 4(4), 654-663.

2. National Academy of Sciences of the United States of America. (1968). The repair of radiation damage in Micrococcus radiodurans. Proceedings of the National Academy of Sciences, 61(1), 176–183.

3. Chaly, O. V. (2013). Medical and biological physics: a textbook for students of higher medical (pharmaceutical) educational institutions. Vinnytsia: New book. 528 p.

4. Zaremba, A.M., Shevchenko, M.A. Study of the effect of ultraviolet radiation on microbes / A.M. Zaremba, M.A. Shevchenko // Theory and practice of chemical engineering. - 2015. - No. 1 (11). - P. 12-17.

5. Romanovska, V.A., Parfenova, V.V. etc. (2011). Resistance of microorganisms to UV radiation. Microbiology, No. 3, 1-6.

ACOUSTIC METHODS OF FOAMING CONTROL IN FERMENTATION PROCESSES

Bursakov K., Kosova V.
Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, vera_62@ukr.net

Introduction. Increasing the production of pharmaceuticals and veterinary products, fodder and supplements, nutrition products, preparations for biological rehabilitation of soils and water bodies, utilization of industrial waste and improvement of their quality level is associated with the introduction of biotechnology achievements and is possible only with the appropriate level of technological equipment. One of the problems in increasing the performance of production of products of biotechnological origin is the rational use of the volume of industrial equipment in which biotechnological, in particular, the fermentation processes take place. It is known that during the vast majority of such processes, a stable foam is created, which can take up to 80% of the volume of the vessel, which leads to a reduction in the volume of the working area of the vessel and, accordingly, a decrease in the output of usable product. In addition, foaming can lead to a partial loss of culture medium due to overflow through the open top edge of the apparatus or its removal through pipelines. The latter, at the same time, worsens the quality of the output product.

In the modern international and national biotechnology industry, mostly used are chemical, mechanical and physical methods of foaming control. All of them have both their advantages and disadvantages. The latter is explained by the fact that the development of each technical foam suppression system is focused on a specific biotechnological process, the characteristics of which, including the foam formed during its course, depend on the physical and chemical characteristics of the components involved in this process and on the operating modes of specific biotechnological equipment[1, 2].

Materials and methods. The research aims is to develop a technical means of destruction of foams formed on the surface of the operating medium during fermentation processes in industrial conditions and to substantiate the possibility of foam extinguishing due to the action of external acoustic radiation.

The subject of research is a foam destruction system of biotechnological origin.

The development of highly efficient foam suppression systems has recently received a lot of attention, which is explained, on the one hand, by the rapid development of biotechnology-based products, and, on the other hand, by the high demand for these products. Previously, foam suppression systems were mainly based on mechanical methods - passive and active - but now the emphasis in the development of such systems is on the use of unconventional methods: aerodynamic, thermal, acoustic, etc. In addition, there is a tendency for a differentiated approach to the development of foam suppression systems depending on the specific biotechnological process and, accordingly, on the characteristics of the foams formed during its course [3, 4].

At present, it is suggested to destroy the dispersed structure of the "gas-liquid foam" type, which occurs on the surface of the working medium during fermentation processes, due to the influence of external acoustic radiation. Dispersed systems of the

"gas-liquid foam" type have finite elasticity and strength and can be destroyed by an external dynamic perturbation. As such a perturbation, it is proposed to use acoustic local radiation, the spatial distribution area of which is the volume occupied by the foam. Under the influence of this radiation, compression-stretching zones consistently appear in the dispersed medium, which in the case of foams of biotechnological origin is a liquid film. At the appropriate level and frequency of acoustic radiation, the strength in these zones can exceed the tensile strength of liquid films and thus lead to their breakage. In addition, alternating loading of the films can also lead to liquid leakage from them, which stimulates their thinning and reduction in strength. Ultimately, this leads to the loss of hydrodynamic and structural stability of the foams and their overall destruction.

Results and discussion. When cultivating yeast in media with different carbon sources, foam control issues have been solved mainly by creating specially designed fermenters, selecting cultivation media and cultivation modes that exclude the use of chemical and mechanical foam suppression methods.

Sustainable foams are most often formed in the production of amino acids, antibiotics, enzymes and other products, the fermentation media of which contain a complex of foaming agents.

The biosynthesis of the listed products is carried out in fermenters under aseptic conditions with a filling factor of 0.5-0.7. With this filling and high foam stability, foam control in fermenters is carried out by chemical, mechanical and combined methods.

Fig. 1 presents a cell culture system (CCS). It can be used as a complex approach to the construction of a system for the passive destruction of foams of biotechnological origin by means of external acoustic radiation.

The nutrient liquid and inoculum are introduced into the body of the pre-sterilized apparatus (Fig. 1) through the nozzle, after which gas is supplied to the aerator through the nozzle for aeration of the culture medium and the drive is turned on, which drives the shaft with mixing paddles The rotating paddles mechanically move the medium and cause its circular motion around the housing axis O, the intensity of which is slowed down by the location of the shaft axis O1 with eccentricity relative to the housing axis. At the same time, two ultrasonic emitters 11 with adjustable beam direction are installed outside the housing, opposite to each other. At the same time, two ultrasonic emitters 11 with adjustable direction of the rays are installed outside the housing, in the opposite direction. The ultrasonic emitter from both sides begins to irradiate the side surface of the housing 1 with sound waves, generating circular and transverse waves in the housing material, which will radiate a sufficiently wide beam of sound waves into the culture liquid, which will cause a "coincidence resonance" of several types of sound waves, resulting in excitation zones where a sharp concentration of sound wave energy between the inner and outer surfaces of the housing will occur.

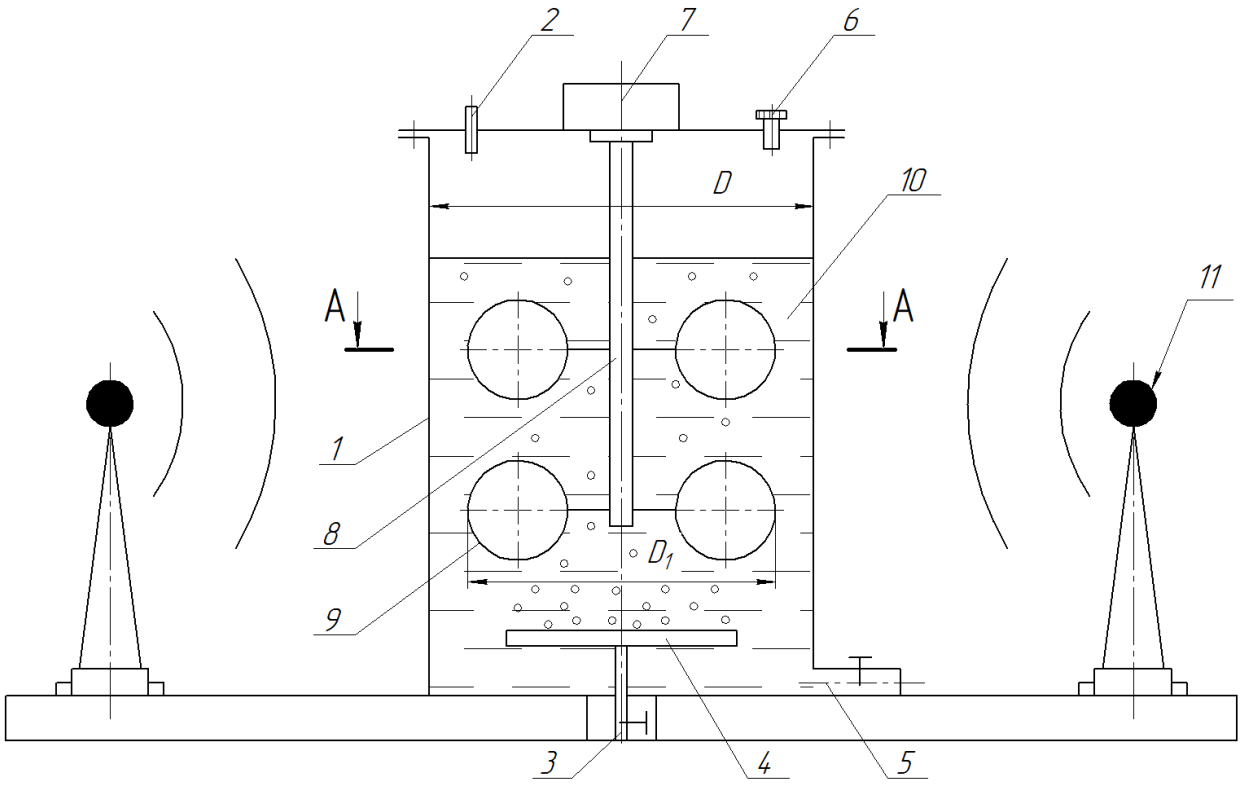


Fig. 1. a)

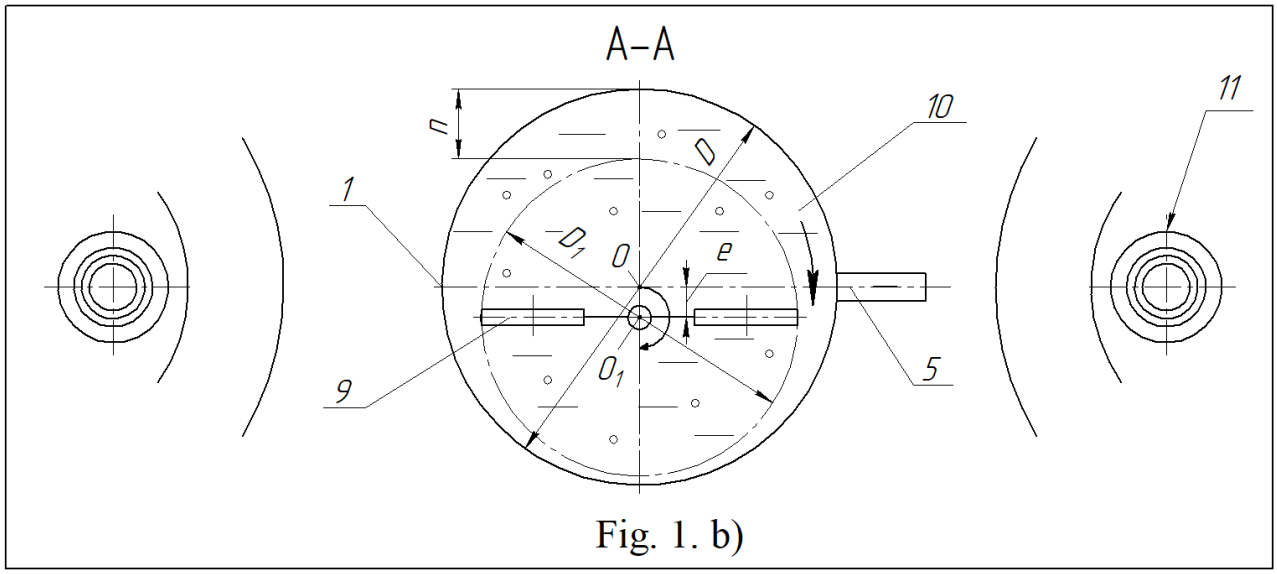


Fig. 1. b)

Fig. 1. Pre-sterilized apparatus: a) General view of the equipment: 1 - cylindrical body, 2 - nozzles for inlet of nutrient liquid and inoculum, 3 - nozzle, 4 - aerator, 5 - nozzle for removal of culture liquid, 6 - nozzle for removal of exhaust gas, 7 - drive, 8 - shaft, 9 - mixing paddles, b) Top view: 10 - working fluid, n - clearance

They will increase the amplitudes of oscillations of the culture fluid by intensively turbulizing it over the entire height of the vessel, which eliminates the appearance of stagnant zones [5]. Since the zones of sound energy concentration will lead to intensive spatial mixing of the working fluid along with high-altitude circulation, instead of one-dimensional movement, the intensity of the mixing process and, accordingly, mass

transfer will increase. The absence of any protrusions on the inner surface of the casing diameter D ensures smooth braking of the medium, eliminates cell injury and leads to an increase in the yield of a quality product. At the same time, stagnant zones are eliminated, which accelerates cell growth and increases productivity. Thus, the ultrasonic emitter will continuously displace the foaming from the bubble film and reduce the film thickness until it breaks.

Conclusions. Acoustic defoamers in fermentation processes are one possible strategy to improve the quality and efficiency of the fermentation process. Foaming can be a problem in residual fermentation processes, reducing the efficiency of the reaction and can lead to product loss.

Acoustic agents can be effective in combating foaming in fermentation processes. foam is usually formed in fermentation and other fermentation processes where gas is released.

Ultrasonic treatment can reduce the level of foaming. Studies have shown that ultrasonic waves affect the microorganisms involved in fermentation, reducing their number and activity. This is to reduce gas release and foaming. only, ultrasonic treatment can increase the speed of the fermentation process and improve the quality of the product.

The artificial formation of the energy activity of the working fluid by an ultrasonic beam at the resonance level allows effective control of the technological process, ensures the sterility of the product, controls the energy state of the working fluid, and increases its productivity. This technical implementation of the design significantly reduces foaming over the entire surface of the device.

References:

1. Korobiichuk I., Mel'nick V., Ostapenko Zh., Ruzhinska L. Investigation of heat and mass transfer processes in the extraction of vegetable raw materials under the conditions of ultrasound // 22nd International Scientific Multidisciplinary Conference on Earth and Planetary Sciences SGEM 2022 2–11 July, 2022.

2. Melnyk V.M. Impact of ultrasound in a vibraseno-acoustic extractor // East European Scientific Journal/ Technical Sciences. №1 (41) 2019. T. 4. P. 16-20.

3. Melnyk VM Cell growth intensification in fermenters // International Scientific Journal "International". - 2019. - №7.

4. Karachun V.V., Melnyk V.M., Fesenko S.V. Diffraction of sound waves on the metal ring/ technological audit and production reserves. - 2016. №6/2 (32). - P. 4-8.

5. I. Korobiichuk, V. Mel'nick, V. Karachun, V. Shybetskyi and S. Kostyk, "Numerical modeling of the possibility of scale power growth of the internal combustion engine in real time," *2021 25th International Conference on Methods and Models in Automation and Robotics (MMAR)*, Międzyzdroje, Poland, 2021, pp. 309-314, doi: 10.1109/MMAR49549.2021.9528472.

ВПЛИВ ГІДРОДИНАМІКИ В БІОРЕАКТОРІ З РУХОМИМ НОСІЄМ БІОПЛІВКИ НА ПРОЦЕС ОДЕРЖАННЯ БІОГАЗУ

Горбунов А. Д[1]., Шафаренко М. В[1]., Яремчук А. В[2].
[1]КПІ ім. Ігоря Сікорського, vmm71@i.ua
[2]Ліцей № 3 Коростишівської міської ради

Вступ. В останні десятиліття багато уваги приділяється питанням, які пов'язані із очисткою стічних вод від органічних домішок. Разом з тим, при анаеробному очищенні одержують такий важливий енергоносій як біогаз. Тому в даній доповіді увага зосереджена на впливі гідродинаміки в біореакторі з рухомим носієм біоплівки на процес одержання біогазу[1].

Предмет дослідження – вплив гідродинаміки на процес одержання біогазу.

Об'єкт дослідження – процес одержання біогазу в біореакторі з перемішуючим пристроєм та інертним носієм біоплівки.

Метою досліджень обрано біореактор з перемішуючим пристроєм для створення анаеробних умов та аналіз експериментальних досліджень процесу отримання біогазу

Матеріали та методи. Процес виділення біогазу в біореакторі з інертним носієм біомаси досліджувався на експериментальній установці, схема якої представлена на Рис. 1.

Установка складається з біореактора 1, який обладнаний якірною мішалкою та має сорочку зі спіральними каналами, в які подається теплоносій. Гарячий теплоносій (гаряча вода) подається в сорочку з термостата 2, а в якості холодного теплоносія використовується водопровідна вода. Для визначення об'єму біогазу, який виділяється, використовуються дві протаровані ємності 3 і 4, одна з яких заповнена водою.

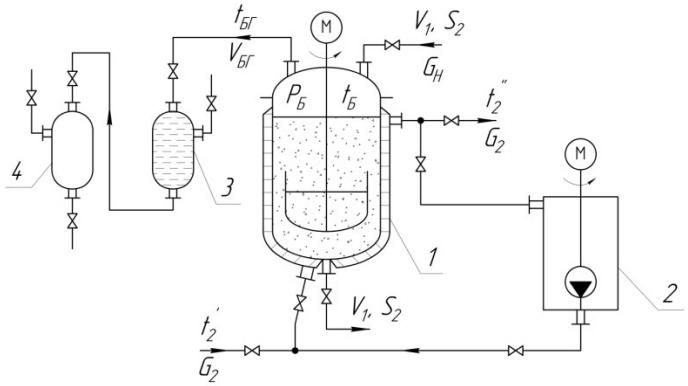


Рис. 1 Схема лабораторної установки для дослідження процесу виділення біогазу в біореакторі з інертним носієм: 1 – біореактор; 2 – термостат; 3, 4 – ємності.

Установка працює наступним чином. В біореактор 1 загружається активоване вугілля, на яке нанесено біомасу – шар активного мулу. Потім в біореактор заливається стічна вода і відбувається продувка азотом для створення анаеробних умов. Після продувки вмикається перемішуючий пристрій і в сорочку біореактора з термостата 2 подається гарячий теплоносій для нагрівання стічної води. Після досягнення в біореакторі температури 37ºС термостат

вимикається, і в сорочку подається холодний теплоносій. Біогаз, який виділяється в ході процесу, поступає в ємність 3 і витісняє воду в ємність 4. За об'ємом витісненої води визначається об'єм біогазу.

Перед початком дослідів фіксувались значення величин, які не змінюються при проведенні анаеробного процесу, це: об'єм стічної води $V_1 = 0{,}025 м^3$; початкова концентрація органічних домішок (субстрату) в стічній воді $S_1 = 40\ {кгХСК}/{м^3}$; маса інертного носія (активованого вугілля АГ- 3) $G_н = 10кг$; середній діаметр частинки інертного носія $d_н = 3{,}6 \cdot 10^{-3}$ м; концентрація активного мулу в біоплівці $X_м = 30\ {кгХСК}/{м^3}$; товщина біоплівки $\delta_{бп} = 2 \cdot 10^{-3} м$; діаметр якірної мішалки $d_м = 0{,}45$ м.

Результати та обговорення. При проведенні дослідів вимірювались наступні величини: температура в біореакторі $t_Б = 37°C$; температура біогазу $t_{БГ} = 25°C$; тиск в біореакторі $P_Б = 0{,}1 - 0{,}105$, МПа; об'єм зібраного біогазу $V_{БГ} = 0{,}31 - 0{,}58$, $м^3$/добу; температура холодного теплоносія на вході в сорочку біореактора $t_2' = 20°C$; температура холодного теплоносія на виході з сорочки біореактора $t_2'' = 25 - 30, °C$; кінцева концентрація органічних домішок (субстрату) в стічній воді $S_2 = 0{,}1 - 20\ {кгХСК}/{м^3}$; число обертів якірної мішалки n=0,25-2, c^{-1}.

Теоретична кількість утвореного метану [2] :

$$V_{CH_4}^{Т} = V_1(S_1 - S_2) \cdot 0{,}38\ ,$$

де $0{,}38\ {м^3 CH_4}/{кгХКС}$ - коефіцієнт перерахунку між ХКС та метаном при 25°C.

Кількість метану, який виділяється в біореакторі, при проведенні експериментальних досліджень:

$$V_{CH_4} = X_{CH_4} V_{БГ}\ ,$$

де X_{CH_4} - об'ємний вміст метану в біогазі.

Питома швидкість виділення субстрату (органічних домішок):

$$r_{X_1 м} = \frac{V_{CH_4}}{f_Н X_М \delta_{БП} \cdot 0{,}38}\ ,$$

де $f_Н$ – площа поверхні інертних носіїв, $м^2$

$$f_Н = \frac{6G_Н}{d_Н \rho_Н},$$

де $\rho_Н = 1450\ {кг}/{м^3}$ - густина активованого вугілля.

Значення критерія Рейнольдса [3]:

$$Re_ц = \frac{n d_М^2 \rho_С}{\mu_С},$$

де $\rho_С$ - густина суміші в біореакторі; $\mu_С$ - коефіцієнт динамічної в'якості суміші в біореакторі

$$\rho_С = \rho_Н \varepsilon + \rho_1(1 - \varepsilon),$$
$$\mu_С = \mu_1(1 + 4{,}5\varepsilon),$$

де ρ_1 , μ_1 – відповідно густина та коефіцієнт динамічної в'язкості стічної води;

ε - об’ємна доля інертних носіїв в суміші

$$\varepsilon = \frac{\frac{G_{\text{Н}}}{\rho_{\text{Н}}}}{\frac{G_{\text{Н}}}{\rho_{\text{Н}}} + V_1}.$$

За результатами проведених досліджень та розрахунків побудована графічна залежність, яка представлена на рис. 2.

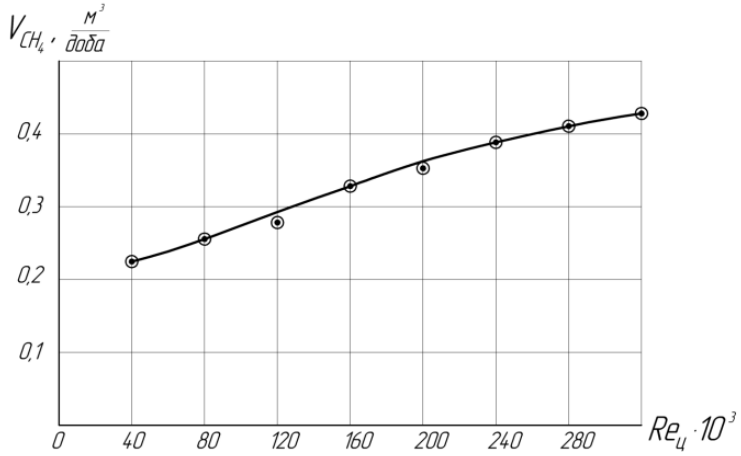


Рис. 2. Залежність кількості утвореного метану від критерія Рейнольдса

Біоплівка утримується на інертних носіях до певної величини числа обертів перемішуючого пристрою (певне значення критерія Рейнольдса Re). При перевищенні цієї величини відбувається відрив біоплівки від носіїв, тим самим зменшується поверхня контакту біоплівки зі стічною водою, що призводить до зменшення кількості виділеного біогазу. Це видно з графічної залежності $V_{CH_4} = \left(Re_{\text{ц}}\right)$ (Рис. 2): зі збільшення значення $Re_{\text{ц}} > 300 \cdot 10^3$ темп росту виділення метану зменшується.

Висновки. Проведені дослідження впливу гідродинаміки на процес одержання біогазу в анаеробних умовах. Так, в біореакторі з перемішуючим пристроєм створюється режим подібний до режиму псевдозрідження, але, при цьому, в біореакторі існує гідродинамічний стан, при якому не руйнується біоплівка і вона утримується на інертних носіях, на відміну від процесу псевдозрідження, при якому в наслідок інтенсивної циркуляції рідини можливий відрив біоплівки від поверхні інертних носіїв.

Список використаної літератури:

1. Siti Nur Hatika Abu Bakar, Hassimi Abu Hasan, Abdul Wahab Mohammad, Siti Rozaimah Sheikh Abdullah, Teow Yeit Haan, Rahmat Ngteni, Khairul Muis Mohamed Yusof. Biogas Production from Organic Wastes Using Moving Bed Biofilm Reactor Technology: A Review. Journal of Cleaner Production Volume 171, 10 January 2018, Pages 1532-1545. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.100

2. Конопацький, М.; Jabłońska, J.; Дубровська, К.; Августиняк А.; Григорцевич, Б.; Gliźniewicz, М.; Врублевський, Е.; Кордас, М.; Доленговська, Б.; Rakoczy, R. Вплив гідродинамічних умов у біореакторі лабораторного масштабу на виробництво метаболіту Pseudomonas aeruginosa . *Мікроорганізми* 2023 , *11* , 88. https://doi.org/10.3390/microorganisms11010088

3. Гарсіа-Очоа, Ф.; Гомес, Е. Розширення біореактора та швидкість передачі кисню в мікробних процесах: огляд. Біотехнологія. Adv. 2009 , 27 , 153–176.

ВИКОРИСТАННЯ СУБЛІМАЦІЙНИХ СУШАРОК ПІД ЧАС ВИСУШУВАННЯ ТЕРМОЛАБІЛЬНИХ МАТЕРІАЛІВ

Зуєва Т.Р.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, zueva404@ukr.net

Вступ. Сушінням називають процес видалення з матеріалу рідини, в результаті чого в ньому збільшується відносний вміст сухих речовин. Сублімаційне сушіння - це сушіння матеріалів у замороженому стані. При такому сушінні волога, що знаходиться в матеріалі, переходить у пару, оминаючи рідкий стан, тобто сублімує.

Головна галузь застосування сублімаційного сушіння в нинішній час - виробничі процеси виготовлення ліків, заквасок, екстрактів лікарських рослин, ферментів і інших продуктів, де потрібно максимально зберегти всі корисні властивості на тривалий час. Консервування лактобактерій, мікроорганізмів і біопрепаратів найбільш якісним виходить саме при використанні сублімаційного сушіння. У харчовій промисловості продукти, висушені даним методом, не тільки зберігають всі корисні речовини, але і здатні дуже довго зберігатися (до 5 років) не втрачаючи аромату і смакових якостей навіть при температурі, що змінюється в межах ± 50 °С. При цьому навіть усадка продукту при сушінні мінімальна, через що при додаванні води можна легко відновити структуру продуктів, які в процесі сублімації набувають пористу структуру [1].

Метою даної роботи є дослідження впливу конструктивних особливостей сублімаційних сушарок на їх продуктивність.

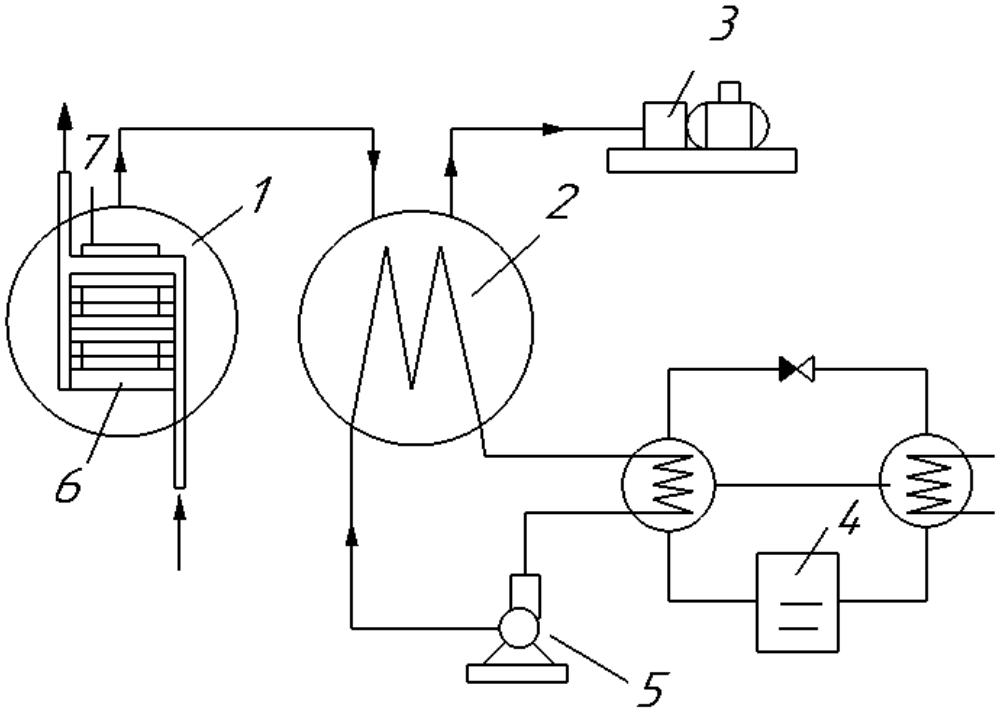


Рис. 1. Принципова схема сублімаційної сушарки:
1 - камера сушарки, 2 - конденсатор-виморожувач, 3 - вакуум-насос, 4 - холодильна установка, 5 - насос для циркуляції холодоагента, 6 - плити, 7 - листи з матеріалом.

Матеріали та методи. В сублімаційних сушарках матеріал, що підлягає сушінню, заморожують у пробірках, колбах або на полицях, а потім піддають сушінню в глибокому вакуумі за температури –50…80 °С. Пара, що видаляється, зсідає на поверхні конденсатора, який має ще нижчу температуру. Після закінчення процесу сухий матеріал вивантажують, а конденсатор розморожують обкочуванням теплою водою або парою. Завершальним етапом є дезінфекція апарата, наприклад, за допомогою H_2O_2 [2]. Принципова схема сублімаційної сушарки наведена на рисунку 1. Ця установка складається із циліндричної сушильної камери 1 (субліматора) із розміщеною у ній етажеркою порожнистих поличок 6, на які завантажується матеріал, який необхідно висушити. На плити встановлюють листи 7 з матеріалом, що висушується. При сублімації паро-повітряна суміш із субліматора 1 надходить у труби конденсатора-виморожувача 2, у міжтрубному просторі якого циркулює холодоагент. Конденсатор включається в один циркуляційний контур з випарником холодильної установки 4 і з'єднується з вакуум-насосом 3, який призначений для відсмоктування газів, що не конденсуються, і для повітря із субліматора [3].

Провідними країнами-виробниками сублімаційних сушарок є США, Китай, Південна Корея та Німеччина. В таблиці 1 представлені характеристики сублімаційних сушарок виробників Україна (рис. 2.a), Zirbus technology GmbH Німеччина (рис. 2.b) та ilShinBioBase Південна Корея (рис. 2.c).

a b c

Рис. 2. Конструкції сублімаційних сушарок:
a – Україна, b - Zirbus technology GmbH Німеччина, c - ilShinBioBase Південна Корея.

Результати та обговорення. Спільною конструктивною особливістю даних сушарок є наявність циліндричної обичайки та пустотілих поличок, в яких рухається теплоносій, в українського виробника теплоносій – вода або пара. В сушарках німецького виробника в поличках протікає соляна олія, що дозволяє точно контролювати температуру полиць, а у південнокорейського виробника полички мають особливу форму, в них теплоносій рухається спірально всередині плити, що дозволяє мінімізувати втрату тепла та збільшує діапазон температур, що і показано в таблиці 1 (Рис. 3).

Таблиця 1. Порівняльна характеристика сублімаційних сушарок

Параметр	Модель СС-100 Україна	Модель LP100 Південна Корея	Модель 100 EKS Німеччина
Об'єм льоду, кг/цикл	100	100	100
Температура полиць, °С	-30…+60	-45…+80	-40…+60
Температура конденсатора, °С	-40	-85	-50
Кількість полиць, шт	20	9	12
Площа полиць, м^2	10	6,4	10,12
Габаритні розміри, мм	Д 2200 Ш 1500 В 2100	Д 2415 Ш 1600 В 2210	Д 1900 Ш 1500 В 1950

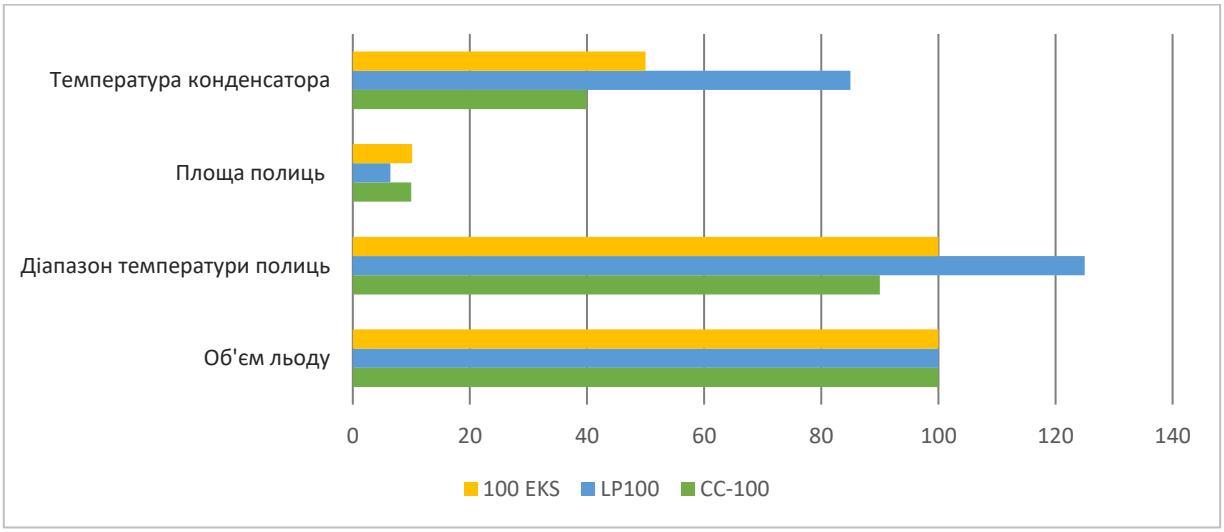


Рис. 3. Порівняльна характеристика сублімаційних сушарок

Висновки. В ході роботи було описано процес сублімаційного сушіння та виконано порівняльну характеристику апаратів різних виробників. Конструктивні особливості сушарок, на прикладі південнокорейського виробництва, суттєво впливають на процес сублімації та покращують процес виробництва.

Список використаної літератури:

1. Ткаченко С. Й., Співак О. Ю. Сушильні процеси та установки. Навчальний посібник. - Вінниця: ВНТУ, 2007. - 76 с.

2.Сидоров Ю.І. Лабораторні та пілотні ліофільні сушарки періодичної дії в біотхенології / Ю. І. Сидоров // Biotechnology. - 2012. - Vol. 5, № 5. - С. 9-15. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/biot_2012_5_5_3

3.Технологічне обладнання біотехнологічної і фармацевтичної промисловості: підручник (для вищ. навч. закл.) Стасевич М.В., Миланич, А.О., Стрельников Л.С., Крутських Т.В., Бучкевич 1.Р., Гузьова, 10. Стрілець О.П., Гладух Є.В., Новіков В.П. - Львів «Новий Світ-2000», 2018- 410 с.

METHODOLOGY OF CONSTRUCTION AND RESEARCH OF HEAT EXCHANGERS IN NTOP PLATFORM AND ANSYS SYSTEMS

Kalinina M.F., Kolisnichenko O.O.
Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, kaa2001@ukr.net

Introduction. Many industries use processes involving temperature changes, such as the chemical, oil, food and other industries. To ensure efficient operation and improve product quality, these industries use heat exchangers to regulate the temperature of the working media and transfer heat between them.

Such processes can be of great importance for production efficiency and equipment durability, so studying the principles of heat exchangers and optimising their operation is an important task for specialists in the heat and power industry and other related fields.

A heat exchanger is an equipment with a working unit that provides heat exchange between elements, usually liquids with different temperatures. Such equipment is used in heating systems, cooling systems, swimming pools, and in various industries: mechanical engineering, chemical industry, pharmaceuticals and food production, etc.

Intensification of the heat transfer process is an important task for many industries, as it allows to increase the efficiency of heat transfer and reduce energy consumption. Some of the main ways to intensify the heat exchange process are: increasing the flow rate, using finned heat exchangers, using surfactants, changing the design, etc.

There are several ways to design heat exchangers, including traditional and computer-aided design (CAD). Traditional design involves the use of empirical formulas and expert judgement to determine the geometry of the heat exchanger and its parameters, such as heat output and temperature conditions. CAD is based on the use of software to create 3-D models of heat exchangers and analyse their properties. One example of such software is nTop Platform, which is based on topological optimisation technology [1].

The study of the designed heat exchangers and their efficiency is an important step in the process of their development. Modelling of processes in heat exchangers allows determining the optimal design parameters, evaluating its efficiency and accuracy before it is manufactured and put into operation.

The main tasks of heat exchanger modelling include determining the heat flow, temperature and pressure distribution, and design requirements for the heat exchanger. In general, heat exchanger modelling reduces the time and cost of heat exchanger development and increases heat transfer efficiency. Various software tools are used for this purpose, including ANSYS, Comsol, SimScale and SolidWorks. Each of these tools has its own advantages and capabilities, so choose the one that best meets the needs and objectives of a particular project.

However, the sequence of actions in modelling is roughly the same and follows a similar plan: building the geometry; breaking it down into a set of finite elements; setting physical laws of the process; defining boundary and initial conditions; performing calculations; processing the results.

Materials and methods. To create a 3-D model of a heat exchanger with a developed heat transfer surface, it is advisable to use the nTop Platform. This is a software for designing and optimising complex mechanical systems. nTop Platform allows you to create lightweight and durable structures with high accuracy and efficiency. The main principles on which the system is based include a generative approach to design, optimisation technologies to increase efficiency and an automated problem-solving process. To build geometry, nTop Platform uses the meshing method, which allows for the creation of parts of complex shapes.

To model the processes in the heat exchanger, ANSYS was chosen - a numerical modelling software that allows analysing various physical processes, including heat transfer, hydraulics, and mechanics [2]. To solve the problems, ANSYS uses the finite element method, which allows you to divide the structure under study into a finite number of elements and model their interaction.

The finite element method allows us to calculate the distribution of stresses and strains in the body, as well as determine the temperature regime and the relevant heat transfer parameters.

For the physical implementation of the designed structures of complex geometric shapes, 3D printers are used to create parts with high precision and detail, to produce structures of any shape and complexity, including those that cannot be manufactured using traditional methods.

Results and discussion. The technology for designing heat exchangers in the nTop Platform using ANSYS involves the following steps:

1. Creating a 3D model of the heat exchanger in nTop Platform using various tools, including topology development and parameter optimisation tools.
2. Transfer the model to ANSYS for numerical heat transfer simulations and design parameter optimisation.
3. Analysing the results of modelling and design optimisation.
4. Development of the final version of the heat exchanger and its transfer for manufacturing.

The shell-and-tube heat exchanger can be replaced by developing a new design that has a higher heat transfer efficiency. For example, a heat exchanger with blade inserts could be considered, which provides a more intensive heat exchange due to a special surface design. Once the new design is developed, it can also be tested using numerical simulations in ANSYS and compared to the shell-and-tube heat exchanger [3-4].

The analysis of the literature shows that many heat exchanger designs designed using the nTop Platform are more efficient than standard shell-and-tube heat exchangers not only in terms of heat transfer coefficient, but also in terms of metal consumption and energy losses. According to research [5], the design of the heat exchange surface is the most balanced in terms of the heat flow - metal consumption ratio (Fig. 1).

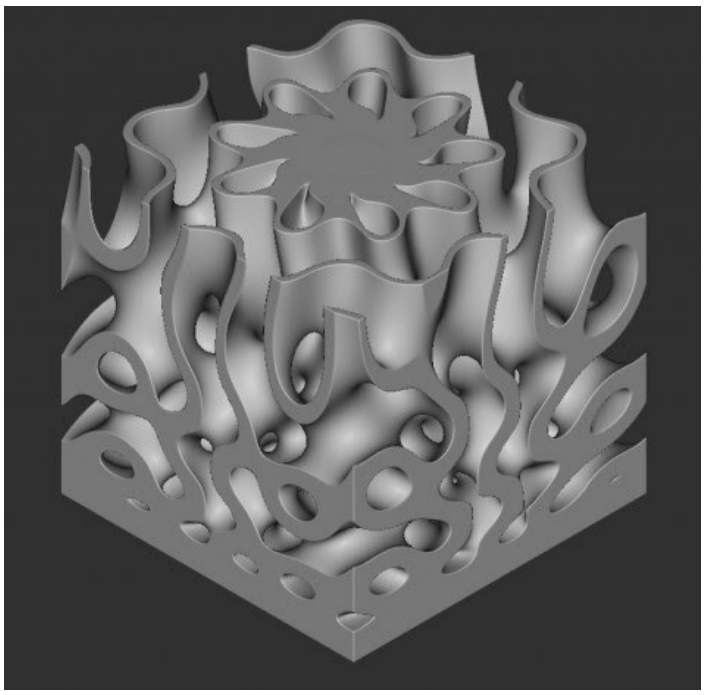


Fig. 1 Design of a high-performance heat exchange surface

Conclusions. The study considers an approach to the construction of heat exchangers based on the use of nTopology software. It is proposed to use a technology that allows creating topologically optimised models.

The importance of determining the optimal configuration of the heat exchanger, which ensures maximum efficiency at given parameters, is highlighted. To achieve this result, it is proposed to use nTopology software.

Also, the importance of using 3D printers to implement complex heat exchanger geometry is emphasised, which ensures increased modelling accuracy and efficiency in the development of new heat exchangers. Also, this design method does not require the use of additional supports, which saves materials.

References:

1. nTopology helps engineers design transformative products and iterate in real-time. https://ntopology.com/ (дата звернення 28.04.2023)

2. Discover ANSYS. https://www.ansys.com/company-information/the-ansys-story (дата звернення 28.04.2023)

3. Kostyk, S.I., Shybetskyi, V.Yu., Plashykhin, S.V., Bykoriz, Y.O. Determination of heat transfer efficiency in the conditions of forced convection from pipes with special ribs. TTPE. 2021. 43. P. 21–29.

4. Korobiichuk, I.; Mel'nick, V.; Shybetskyi, V.; Kostyk, S.; Kalinina, M. Optimization of Heat Exchange Plate Geometry by Modeling Physical Processes Using CAD. *Energies* 2022, *15*, 1430.

5. Ryan O'Hara. Taking Heat Exchanger Design to the Next Level with High-Performance Geometry. December 16, 2019. https://ntopology.com/blog/heat-exchanger-design-high-performance/.

HEAT EXCHANGER DESIGN WITH HIGH-PERFORMANCE GEOMETRY

Kalinina M.F., Mykolaichuk V.V.
Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, m12.vovk@gmail.com

Introductions. A typical implementation of heat exchange equipment is plate, shell and tube heat exchangers, heat exchangers of the "Pipe in a pipe" type. These designs were designed back in the last century and due to the limitations of technological manufacturing processes for some time were without alternatives. However, the design of heat exchangers with high-performance geometry is a new direction in the development of heat exchangers. These heat exchangers have an unusual shape, which allows to improve their performance and efficiency [1].

Standard heat exchangers have their limitations regarding their productivity and efficiency [2]. For example, they can have a limited effective heat exchange surface, high hydraulic resistance and uneven distribution of heat between heat carriers.

Optimizing standard heat exchangers using high-performance geometries can improve their performance and efficiency, which will reduce process energy costs and increase the efficiency of heat exchange processes [3].

There are several ways to optimize heat exchangers with highly efficient geometry [4]:

1. Use of computer modeling: Modern programs for modeling heat exchange can help in determining the optimal geometry of the heat exchanger. They can provide a detailed analysis of heat transfer efficiency with different geometric parameters of the heat exchanger.

2. Application of new materials: The use of new materials, such as composite materials or materials with high thermal conductivity, can improve heat transfer efficiency and reduce hydraulic resistance.

3. Use of special geometry: High-performance heat exchanger geometries can be designed to improve heat transfer. For example, micro-ribs, micro-channels or perforated plates can provide improved heat transfer efficiency and reduced hydraulic resistance.

4. Selection of optimal parameters: Optimal parameters of the heat exchanger can be determined to increase the efficiency of the heat exchange, such as the size and shape of the heat exchange surface, the size of the tubes or channels, and the number and size of the holes.

5. Use of alternative technologies: New technologies such as direct contact technologies can provide improved heat transfer efficiency.

These optimization paths can be used individually or in combination to achieve the most efficient heat exchanger design [5].

The shape of the surface of heat exchangers with high performance geometry can be very diverse, depending on the specific design of the heat exchanger and its purpose. However, in general, the surface of such a heat exchanger has a complex geometry that includes various elements and structures that provide a larger heat exchange area and improved efficiency [6].

Gyroid channels of complex geometry are a geometric form of channels used in heat exchangers with high-performance geometry to increase heat exchange performance. Gyroid is a mathematical shape that arises when interpreting a mathematical function in three-dimensional space. The geometry of the gyroid has a complex structure with different sizes of pores connected by thin partitions [7]. This structure resembles a network of interwoven hollow tubes (Fig. 1).

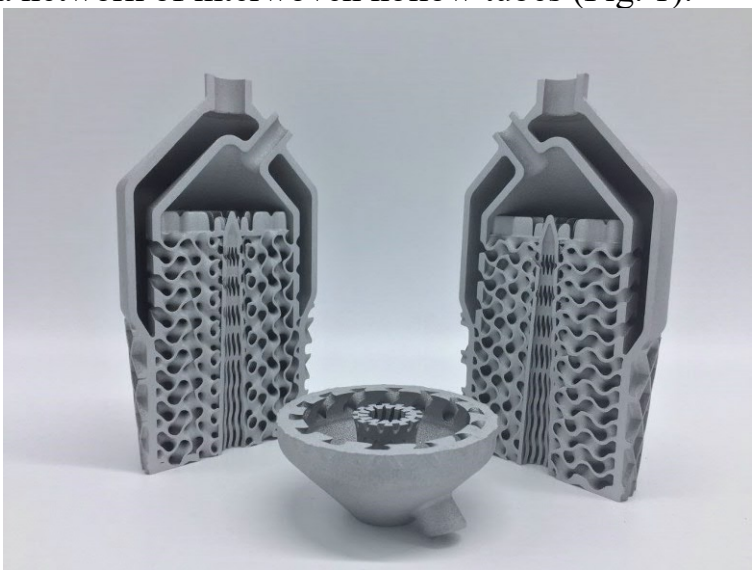


Fig. 1. Heat exchanger with gyroid canal [2]

Channels of complex geometry of heat exchangers with high-performance geometry provide a larger contact surface between heat carriers and contribute to more efficient heat exchange. In addition, such channels make it possible to reduce hydraulic resistance, which reduces energy consumption for pumping coolants through the heat exchanger.

The use of gyroid canals in heat exchangers with high-performance geometry is the latest engineering solution that can increase the performance of heat exchange and reduce energy costs for its provision.

Materials and methods. The methods and materials used in heat exchangers with high-performance geometry can be varied, depending on the specific design of the heat exchanger and its purpose. However, in general, they are based on a geometric and physical description that helps to provide a larger heat transfer area and improve efficiency.

The geometric description in heat exchangers with high-performance geometry includes the description of the shape of the surface of the heat exchanger and the location of its elements, such as fins, partitions, etc. The description of the shape of the surface of the heat exchanger can be complex and include various geometric elements that provide a larger heat exchange area. The location of the elements on the surface of the heat exchanger and their geometry also help to improve the efficiency of heat exchange.

The physical description in heat exchangers with high-performance geometry includes the description of thermal processes occurring in the heat exchanger and the use of materials with certain properties. For example, using materials with high thermal conductivity that allow heat to be transferred quickly and efficiently can improve heat

transfer efficiency. Materials that have a certain porosity or texture can also be used, which provides a larger area for heat exchange.

Regarding the methods, various design and optimization methods are used in heat exchangers with high performance geometry, such as numerical simulation, optimization by simulated annealing method, genetic algorithm method, etc.

Results and discussion. During the production of lysine at the stage of concentration of KRL, the medium is heated to a certain temperature using a shell and tube heat exchanger. Thus, replacing a shell-and-tube vertical heat exchanger with a heat exchanger with a high-performance geometry can have several advantages.

First of all, the new heat exchanger with high-performance geometry can provide more efficient heat exchange, thanks to its complex geometry, which provides an increase in the heat exchange area. This can lead to lower energy costs and lower temperature losses.

With these advantages in mind, replacing a shell-and-tube vertical heat exchanger with a heat exchanger with a high-performance geometry can be a profitable step for the enterprise.

Conclusions. There are different types of heat transfer intensification, such as the use of surface stresses, the installation of internal obstacles, the use of high-performance heat exchanger geometries, etc. Each of these methods has its advantages and disadvantages.

The use of high-performance geometry of heat exchangers, such as gyroid channels, makes it possible to increase the efficiency of heat exchange and reduce energy costs. In addition, high-performance heat exchangers can provide more efficient use of heat exchange in various industries, such as industrial, automotive and energy industries.

On the basis of the conducted analytical research, it is advisable to replace the heat exchanger of the stage of heating the lysine culture liquid from a shell-and-tube heat exchanger to a high-performance heat exchanger with gyroid channels. This will reduce energy costs for heating the liquid and ensure more efficient heat exchange.

References:

1. Tozhbe S., Kokaef D., Kokaef I. (2019). Overview of heat exchanger design and optimization methods: Comprehensive analysis. Energy conversion and management.

2. NTopology. (2021). Heat exchanger design with highly efficient geometry. https://ntopology.com/blog/heat-exchanger-design-high-performance/

3. Ma, H., Balaji, K. (2019). Investigation of heat transfer and fluid flow in corrugated channels using numerical simulation. International Journal of Heat and Mass Transfer.

4. Xu, H., Guo, L., and Wu, H. (2016). Thermal analysis and design optimization of radiators with a hybrid shape. Applied heat engineering.

5. Zhang, P., Wu, Z., Li, S., Li, J., and He, Y. (2021). Design of a radiator with gyroid channels using multi-criteria optimization. International Journal of Heat and Mass Transfer.

6. Savchenko, M. Yu., Kostromina, M. A. (2018). Research of heat exchangers with corrugated surfaces. Technical thermophysics and energy.

7. Skrypchenko, I. I., Bibyk, O. V., Panchenko, O. M. (2018). Study of the influence of channel geometry on the intensification of heat exchange. Scientific Bulletin of the Ivano-Frankivsk National Technical University of Oil and Gas.

STUDY ON THE DRYING OF APPLE PECTIN

Kinkai F., Melnyck V., Shafarenko M.
Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, floriankinkaj@gmail.com

Introduction. The use of dryers is diverse - in the production of food products, the production of multi-tonne products of microbiological synthesis. The main advantage of using dryers for the manufacture of pharmaceutical substances is compliance with GMP requirements and the availability of validation documents. Such dryers are manufactured by such companies as GEA Niro Atomiae and Anhydro (Denmark) [1]. Dried products with promising raw materials are a good choice for restaurant business, especially fast food such as bistros and cafes. Consumers of these types of products are power structures, food concentrate production, special contingent (geologists, athletes, astronauts), etc. Spray drying, as well as freeze drying, is the most common method of obtaining microbiological synthesis products from native solutions, as it ensures drying of liquids within a few seconds [2]. Specifically, spray dryers are used to produce dry bacterial preparations, antibiotics, vaccines and other pharmaceutical products. This type of apparatus was first used in the early twentieth century to dry milk and blood. The principle of their operation is the fine spraying of solutions to be dried using spray discs or nozzles when the aerosol comes into contact with hot air in a special chamber [3]. This method of drying is based on the vacuum extraction of moisture from the material that is in a frozen state; in this case, the ice turns into a gas state, bypassing the liquid state [4]. A new promising type of lyophilic dryers is considered, in which Peltier thermoelectric elements are used for sublimation and desublimation. The principle of operation is described and basic information about spray-sublimation dryers for the preparation of powdered pharmaceutical substances for inhalation of dry powdered substances and their needleless intradermal injection is given. It is known that freeze dryers are used in production facilities for drying serums, antibiotics, enzymes, and food products.

In [5], industrial freeze dryers of non-periodic action are used for freezing the material to be dried, freezing (sublimation) of the frozen material in a vacuum, connecting the sublimation chambers and sterilising the equipment. Paper [6] describes the drying of paste-like thermolabile materials, which is a complex technological and heat and mass transfer problem. Drying is carried out in the following devices: chamber, cabinet, pneumatic gas, spray, vacuum roll, freeze-drying, belt, drum dryers, carousel type, and in a vibrating fluidised bed. It is proposed to carry out drying in a fluidised bed. The drying process is analysed by the so-called "shrinkage" phenomenon, which is the cause of cracks. This is considered to be the cause of complete destruction, since the development of the volume-stress state of the dried material above the maximum permissible for this material is observed.The object of the study is to investigate the operating modes of the experimental fluidised bed unit: fluidisation, fountain mode, removal of the dried material from the apparatus.

The aim is to determine the dependence of the moisture content of exhaust air on the moisture content of apple pulp (pectin) in the experimental fluidised bed unit.

Materials and methods. Fig. 1 shows the experimental fluidised bed setup. Loading device 1 is fed with wet pectin, which then enters the compartment with a grid 3.

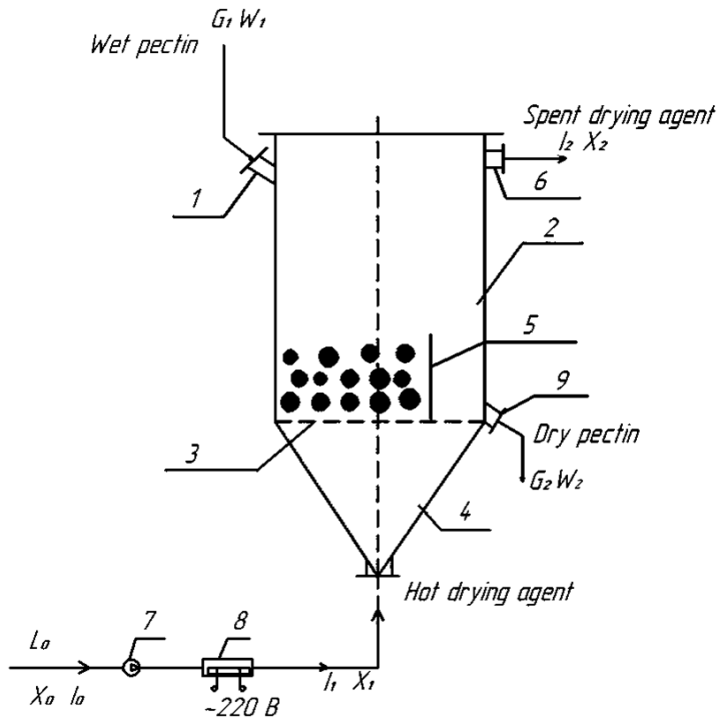


Fig. 1. Experimental setup: 1 - loading device, 2 - upper chamber, 3 - grate, 4 - lower chamber, 5 - unloading partition, 6 - outlet connection, 7 - fan, 8 - heater, 9 - unloading device.

A fan 7 and a heater 8 are installed under the lower chamber 4. Hot drying agent is supplied from the lower chamber 4, which dries the pectin (apple pulp). The spent drying agent for pectin is fed directly into the outlet 7, which allows us to calculate the moisture content of the pectin after drying. First of all, the dried pectin is then fed through the discharge partition 5 into the discharge device 6, where the finished dried pectin is already available.

Results and discussion. The following quantities were measured during the experiment: wet material and removed moisture capacity (G1 and GW), air humidity (X0), and air moisture content at the dryer outlet X2 [6].

Performance on wet material:

$$G_1 = G_2 \frac{100-\omega_2}{100-\omega_1} .$$

Performance by moisture removed:

$$G_B = G_1 - G_2 .$$

Air humidity:

$$X_0 = 0{,}622 \frac{\varphi_0 P_0}{B-\varphi_0 P_0} .$$

The moisture content of the air at the dryer outlet:

$$X_2 = \frac{1000 t_2 - I_1 + \Delta \cdot x_1}{\Delta - 1{,}97 \cdot 10^3 t_2 - 2493 \cdot 10^3} .$$

Fig. 2 shows the results of the experiment and a graph of the moisture content of the air at the outlet of the dryer [6].

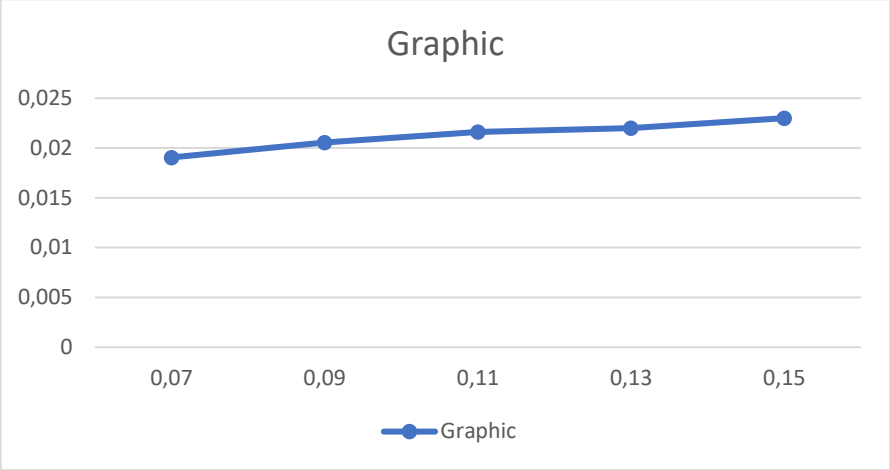


Fig. 2. Graph of the moisture content of the air at the dryer outlet: $X_2 = 0,05W_1 - 0,0156$ – dependence of the air moisture content at the dryer outlet on the initial pectin moisture content.

Table 1 shows the result of my calculation of the moisture content of the material.

Table 1. Comparison of moisture content between experimental and calculated values.

№ experiment	W_1 ,%	φ2 ex	φ2 ex, kg/kg	X2, kg/g sol
1	15	0,15	0,0244	0,023
2	13	0,14	0,023	0,022
3	11	0,135	0,022	0,0216
4	9	0,13	0,021	0,02056
5	7	0,125	0,02	0,01905

Conclusion. The influence of the drying process on the functional and physicochemical properties of pectin was investigated, which made it possible to obtain the highest quality product at minimal cost.

References:

1. Wang Z.L et al. Powder Formation by Atmospheric Spray-Freeze Drying / Powder Technol. - 2006. - V. 170. - 45-52.

2. Pikal M.J., Dellerman K.M., Roy M.L., Riggin R.M. The effects of formulation variables on the stability of freeze-dried human growth hormone / Pharm. Res. - 1991. - V. 8. - P. 427-437.

3. Tretyakov Yu.D., Oleinikov N.N., Shlyakhtin, O.A. / Cryochemical Technology of Advanced Materials. - London: Chapman & Hall, 1997. - P. 72-126.

4. Sidorov Y.I. Laboratory and pilot batch freeze dryers in biochemistry / Biotechnology. - 2012. - Vol. 5, No. 5. - C. 9-15. - Access mode: http://nbuv.gov.ua/UJRN/biot_2012_5_5_3.

5. Industrial lyophilic batch dryers in biotechnology / Biotechnology. - 2012. - Vol. 5, No. 6. - P. 39-46. - Access mode: http://nbuv.gov.ua/UJRN/biot_2012_5_6_5.

6. Kuris, Y.V.; Chervonyi, I.F.; Kalintseva, Y.S. Experimental studies of methods of heat supply for intensification of the process of material drying / Energysberezhennia. - 2010. № 9 (79). C. 23-33.

ВПЛИВ УЛЬТРАЗВУКОВИХ КОЛИВАНЬ ТА УМОВ МОДУЛЬОВАНОЇ МІКРОГРАВІТАЦІЇ НА ПЕРЕБІГ ФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ В БІОТЕХНОЛОГІЇ ХЛІБА НА ЗАКВАСКІ З ПІДВИЩЕНИМ ТИТРОМ ЖИТТЄЗДАТНИХ КУЛЬТУР БРОДИЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ

Корнієнко І.М.[1], Гуляєв В.М.[2], Монченко О.В.[1], Корнієнко Ю.М.[2], Філімоненко О.Ю.[2], Коваленко А.Л.[2], Кускова В.В.[1]
[1]Національний авіаційний університет, kornienko.1979@gmail.com
[2]Дніпровський державний технічний університет

Вступ. Виробництво хлібобулочних виробів характеризується високими енергетичними витратами. На всіх стадіях технологічного процесу споживається значна кількість електроенергії для роботи дозаторів, транспортерів, механічних змішувачів та диспергаторів, також необхідна теплова енергія для проведення стадій випікання тістових заготовок, їх вистоювання та охолодження. Цілком очевидно, що для організації ефективного та прибуткового виробництва необхідне використання останніх досягнень науки і техніки, які дозволили б, серед іншого, зменшити енергоспоживання при одержанні готової продукції. Частково цю задачу можна вирішити заміною традиційної сировини, іншою альтернативною є зміна рецептури виробів, також, перспективним є використання фізичних факторів впливу на бродильні процеси. Виходячи із цього, запропоновано дослідити вплив фізичних факторів на перебіг ферментаційних процесів зброджування борошняної складової в біотехнології хліба (активації бродильної мікрофлори за швидкістю спливання кульки та часу ферментації) на установках «Кліностат» та УЗТ-1.01Ф [1, 2].

Матеріали та методи. Методика дослідження полягала у встановленні впливу ультразвукових коливань різних частот (36, 195, 400, 900 кГц та 1 МГц відповідно) і щільності потоку потужності (діапазон - 0,1 0,3 0,5 0,7 Вт/см^2 відповідно), також, впливу умов мікрогравітації закваски на інтенсивність ферментаційних процесів. Закваску виготовлено із додаванням чистих культур молочнокислих бактерій (МКБ) та лактозних дріжджів (ЛД) до борошняної суміші та води. Оцінку впливу фізичних факторів проводили за показниками титру життєздатних клітин біологічних об'єктів та швидкістю спливання за кулькою. Для реалізації даних досліджень було використано наступні прилади: апарат ультразвуковий (УЗТ-1.01Ф) та установку для дослідження процесів модульованої мікрогравітації «Кліностат». Прилад УЗТ-1.01Ф працює в комплексі із генератором та модулятором ультразвукових сигналів (Г3-112/1), частотоміром електронно-рахунковим (Ф5. 311). Завдяки регуляторам можна встановлювати необхідну щільність потоку потужності. В комплекті є приймачі –датчики УЗ коливань (основа роботи датчиків-приймачів полягає у п'єзоелектричному магнітострикційному ефекті). Установка, яка імітує процеси мікрогравітації «Кліностат», реалізує повільні обертання біологічного об'єкта в стерильних флаконах з частотою 4 оберт/хв. Вісь обертання в установці «Кліностат» паралельна землі, що повністю відповідає технічним характеристикам та вимогам до типових приладів, сила тяжіння (g) не більше 0,1.

Результати та обговорення. Доведено, що механічні та хімічні ефекти, які генеруються низькочастотним ультразвуком (УЗ) різної інтенсивності, можуть бути корисні для активації різних мікроорганізмів. Ультразвук, також, інтенсифікує біохімічні процеси, тому його застосовують для активації культур мікроорганізмів безпосередньо перед використанням у біотехнологічних процесах, зокрема, при виробництві хліба, кисломолочних продуктів, винних напоїв [1, 2].

Науковий і практичний інтерес, на нашу думку, має вивчення процесів життєдіяльності мікроорганізмів в умовах мікрогравітації. В останні роки активно вивчається вплив мікрогравітації на морфологію клітин та їх функції. Показано, що такі процеси, як проліферація, диференціювання, клітинний цикл, живучість клітин, їх програмована загибель (апоптоз) істотно змінюються під впливом мікрогравітації, що вказує на практичну можливість її використання для цілеспрямованої регуляції клітинного метаболізму.

Отримані результати досліджень свідчать, що при частоті 1 мГц та щільності потоку 0,5 Вт/см^2 відбувається інтенсифікація росту МКБ (лакто- та біфідобактерій), титр яких коливається в межах 2,3 - 3,0*10^8 кл/мл відповідно. Титр життєздатних ЛД є меншим і відповідає значенню 3.9*10^7 кл/мл. Отримані результати досліджень свідчать, що завдяки присутності ЛД у складі закваски, відбувається інтенсифікації процесів газоутворення тіста, що також пояснюється процесами стимульованої активації мікрофлори закваски під впливом УЗ. Завдяки цьому впливу, вдалося зменшити час ферментації на 1 годину.

В останні роки в Україні та інших країнах світу зростає інтерес до космічної біотехнології, яка займається вивченням впливу сили тяжіння на ріст, розвиток, морфогенез мікроорганізмів та рослин. Усі ці дослідження дозволяють вирішити ряд прикладних проблем космічної біотехнології. Наразі ведуться дослідження, спрямовані на можливість отримання функціонального кисломолочного напою в умовах космічного корабля, а також, вирощування овочевих галерей. Враховуючи вище вказане, проведено дослідження впливу умов модульованої мікрогравітації на титр життєздатних клітин МКБ та ЛД у складі закваски для хлібопекарських потреб з визначенням піднімальної сили за швидкістю спливання кульки. Процес ферментації тривав 300 хвилин при температурі 24 ^{0}С в стерильних умовах. Порівняльна характеристика даного показника за умови озвучування закваски та впливу модульованої мікрогравітації наведена на рис.1. За результатами досліджень встановлено, що за рахунок присутності ЛД у заквасці, відбувається збільшення газоутворювальної здатності тіста на 5%, за рахунок чого відбувається скорочення часу спливання за кулькою, яке зменшилося у зразку К2 порівняно із зразком К1 із 40 хвилин до 37 хвилин. Найкращій результат показний для зразку 1, який був активований УЗ та зразку 3, який перебував в умовах мікрогравітації на установці «Кліностат» протягом 300 хвилин. В зразках 1 та 3 фіксується найменший час спливання за кулькою 26 та 23 хв., що в повній мірі виповідає вимогам до заквасок.

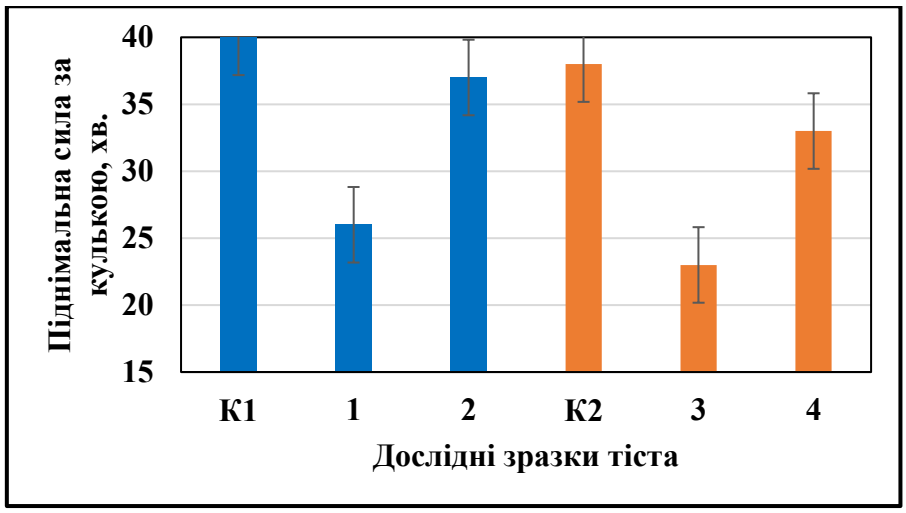


Рис.1. Вплив УЗ-коливань та умов модельованої мікрогравітації на перебіг ферментаційних процесів (піднімальна сила закваски за кулькою), хв.: К1- закваска з підвищеним титром МКБ, 1- закваска з підвищеним титром МКБ після активації УЗ (частота 1 мГц, щільність потоку потужності 0,5 Вт/см^2); 2- закваска з підвищеним титром МКБ після кліностатування; К2 – закваска із підвищеним титром МКБ, ЛД; 5 – закваска із підвищеним титром МКБ, ЛД після активації УЗ (частота 1 мГц, щільність потоку потужності 0,5 Вт/см^2); 6 – закваска з підвищеним титром МКБ, ЛД після кліностатування.

Встановлено, що завдяки процесам впливу ультразвукових коливань, відбувається збільшення газоуторювальної здатності тіста на 28% для зразку 1 та 36 % для зразку 3, що пояснюється впливом виділеного вуглекислого газу ЛД в переважній кількості порівняно із МКБ. В умовах кліностатування фіксується скорочення часу спливання за кулькою за рахунок вібрацій та електромагнітних коливань, які впливають протягом 300 хвилин на процес ферментації.

Висновки. Порівнюючи вплив досліджених фізичних факторів, рекомендовано використання УЗ для активації бродильних процесів з економічної точки зору, оскільки озвучування закваски для хлібопечення триває 4 хвилини. Щодо впливу процесу кліностатування на закваску для хлібопекарських потреб - відмічається зменшення часу ферментації, збільшення титру МКБ, особливо, лактозних дріжджів, що свідчить про можливість проведення подальших досліджень в реальних космічних умовах.

Список використаної літератури:

1. Denglin Luo, Ruoyan Wu, Jie Zhang et al. Effects of ultrasound assisted dough fermentation on the quality of steamed bread. Journal of Cereal Science.2018; 83(1):147-152.

2. Yanyan Zhang, Bei Wang, Cunshan Zhou et al. Surface topography, nano-mechanics and secondary structure of wheat gluten pretreated by alternate dual-frequency ultrasound and the correlation to enzymolysis. Ultrasonics Sonochemistry.2016; 31(1):267-265.

DEVELOPMENT AND IMPLEMENTATION OF DRYING PLANTS FOR ORGANIC WASTE PROCESSING

Liashenko A.
Institute of Engineering Thermophysics of the National Academy of Sciences of Ukraine, A.Lyashenko@ukr.net

Introduction. The level of use of renewable wet biomass resources in Ukraine is currently many times lower than in European countries, and in recent years there has been a clear trend towards further deterioration of this indicator [1, 2].

As a result, livestock farming, absorbing crop products and being a serious environmental pollution factor, does not return organic matter to the fields, which has led to a catastrophic decline in soil fertility.

The loss of humus in Ukraine as a whole in the amount of 11.4 million tonnes per year has led to a reduction in its reserves by 25-30% over the past 20 years [2].

The main reasons for this situation are the high cost of mineral fertilisers, which is also on a steady upward trend, the lack of manure due to the disappearance of most small farms and a sharp decline in cattle numbers. The sharp increase in the unit capacity of livestock farms (especially poultry and pig farms) has led to a large concentration of biomass in one place, and it is unprofitable to transport unprocessed manure, which has ballast in the form of a large amount of water (up to 80% moisture content), further than 5 km due to high transport costs.

Another important reason for the problems faced in agriculture is the inability to ensure long-term storage of biomass fertilisers due to the closure of many drying facilities due to the sharp rise in the price of fossil fuels and electricity.

Existing foreign biomass waste processing technologies are not suitable for large-scale livestock farms, which are typical for Ukraine but rarely built in developed countries due to the high costs of meeting environmental requirements.

In addition, modern foreign technologies for the disposal of waste from livestock complexes are closely linked to the technological process and equipment for the production of the main products - meat and eggs. For this reason, the application of these technologies in Ukraine requires large capital expenditures to replace a significant part of the existing equipment of a poultry or pig farm and does not justify itself economically.

Therefore, the prospect of using biomass as fertiliser directly depends on the solution to the issue of replacing natural gas with solid fuels. Cost-effective fertiliser production on an industrial scale is only possible if cheap heat energy is available.

Currently, the main types of wet biomass used as fuel are *sunflower husk and wood*. *Straw is* used in small volumes.

Due to the fact that husks are quite fire hazardous when piled up and stored, a few years ago they were taken to a landfill and burned there. Currently, the husk is successfully burned at the enterprises where it is produced, completely replacing natural gas, and *pellets are* made from it and exported.

Straw is burned in small quantities at low-capacity thermal power plants and is also used to make briquettes or cylindrical fuel pellets (pellets).

Wood is used in the form of firewood, wood chips and artificial pressed fuel - briquettes or pellets. At the same time, the bulk of wood fuel is exported (especially pellets), which is due to the fact that the countries participating in the Kyoto Protocol have economic mechanisms in place to encourage the use of biomass fuel and specialised devices for its use to improve the global environment. For example, German legislation provides for a surcharge for each kilowatt of heat produced and an additional surcharge for the installation of a specialised boiler in proportion to its capacity.

Pellet production is a multi-stage process that includes deep artificial drying and is characterised by significant specific electricity consumption for the mechanical work of grinding the material to very small sizes and pressing it.

In addition, pellet production is characterised by significant operating costs associated with the rapid wear and subsequent frequent replacement of loaded machine components (e.g. press dies), which are made of expensive alloyed metals.

Materials and methods. In recent years, in European countries, and more recently in Ukraine, boiler equipment adapted for the combustion of wood chips with a moisture content of up to 60% has been used. This technical solution is used for the reasons that it is not rational to organise drying production at single heat and power facilities, especially those of small capacity, which requires large capital expenditures.

However, when operating several facilities at a short distance from each other, it is more cost-effective to organise pre-drying of the chips.

Summing up the above, it can be stated that when using wet biomass as fertiliser, fuel and feed, it is desirable to organise its energy-efficient dehydration in order to reduce the loss of energy potential during storage and combustion of biomass [3].

Results and discussion. The ITTF of the National Academy of Sciences of Ukraine has long been conducting research aimed at creating energy-efficient equipment for the utilisation of organic waste from the agro-industrial complex.

Fig. 1 shows an installation for drying organic waste from poultry farms with a capacity of up to 600 kg/h, with the possibility of heat treatment of highly moist materials with a moisture content of up to 90%. Specific energy consumption: up to 3500 kJ/kg of fresh moisture (850 kcal/kg of fresh moisture).

Based on the results of experimental studies, technologies and equipment for processing thermolabile materials (chicken manure, fish meal, sugar production waste, etc.) were developed at the ITTF of the National Academy of Sciences of Ukraine under various drying conditions.

Fig. 2 shows the following pilot rotary installation developed at the ITTF of the National Academy of Sciences of Ukraine, which can be used for drying wood chips with a fuel capacity of up to 1000 kg/h, with the possibility of heat treatment of highly moist materials with a moisture content of up to 55%. Specific energy performance: up to 4000 kJ/kg of moisture content (950 kcal/kg of moisture content).

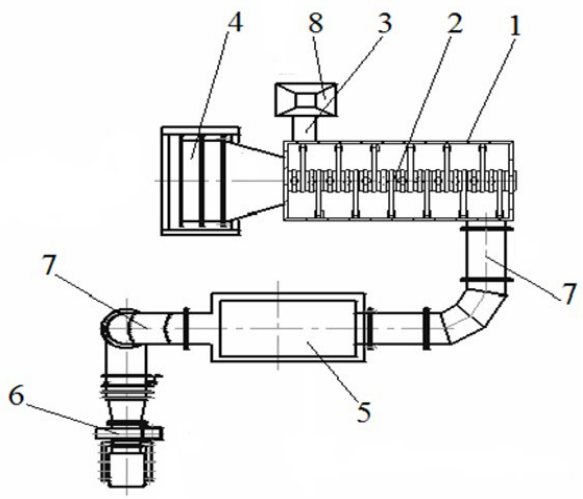


Fig. 1. A plant for processing organic waste from poultry production developed at the ITTF of the National Academy of Sciences of Ukraine: 1 - chamber for the combined drying and dispersion process; 2 - rotor; 3 - screw feeder-dispenser for feedstock; 4 - heat generator; 5 - device for separating solid and gaseous phases, which separates the finished product from the coolant; 6 - fan; 7 - air duct system; 8 - receiving hopper.

Fig. 2. General photo of the rotary drying unit with the possibility of drying fuel chips developed at the ITTF of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Theoretical analysis and pilot tests show the prospects of using plants that operate with simultaneous drying and dispersion in one working chamber, which meets modern requirements for drying equipment. They create large heat and mass transfer surfaces, increase specific productivity compared to, for example, drum plants, and reduce capital expenditures and energy consumption for moisture evaporation.

Conclusions. Thus, the many years of experience in experimental research and design development carried out at the ITTF of the National Academy of Sciences of Ukraine allows us to offer various Ukrainian farms our own domestic developments for the post-war recovery of the Ukrainian economy.

References:

1. National report on the state of the environment in Ukraine in 2020: site. URL: https://mepr.gov.ua/news/38840.html (date of appeal: 18.04.2023).

2. State Statistics Service of Ukraine: site. URL: http://www.ukrstat.gov.ua (date of appeal: 04/17/2023).

3. Liashenko A. Intensification of Heat and Mass Transfer and Dewatering of Thermolabile Organic Materials. Onacht scientific works: energy efficient processes and equipment of food production. 2021. № 85. P. 63 - 68.

ДОСЛІДЖЕННЯ КАВІТАЦІЙНОГО ВПЛИВУ ПРИ ЕКСТРАГУВАННІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Макаренко А.А., Авдєєва Л.Ю.
Інститут технічної теплофізики НАН України, tbds_ittf@ukr.net

Вступ. Використання препаратів на основі екстрактів лікарської рослинної сировини постійно зростає у медичній, фармацевтичній, хімічній і харчовій промисловості. Це пов'язано з високим вмістом біологічно активних речовин (БАР) і широким спектром дії рослинних екстрактів, а також багатокомпонентним складом та економічною доступністю лікарської рослинної сировини. Технології отримання екстрактів з рослинної сировини, через значне різноманіття видів, складу і фізико-хімічних властивостей рослинної сировини, вимагають свого постійного удосконалення, індивідуальних підходів і застосування інноваційних методів обробки. Традиційні способи вилучення БАР з лікарського рослинної сировини, на відміну від сучасних, малоефективні, характеризуються високою тривалістю та непродуктивними витратами підведеної енергії [1,2].

Для ефективної переробки рослинної сировини потрібне створення і впровадження ефективного технологічного обладнання з високим ступенем впливу на оброблювану сировину і малими питомими енерговитратами і металомісткістю. Це вимагає використання нових підходів і інженерної реалізації при розробці технологій і обладнання, **які дозволяють змінити в потрібному напрямку стан системи і швидкість протікання в ній процесів переносу** специфіку переробки різного роду рослинної сировини. Особливо важливими на сьогоднішній день є проблеми енергозбереження [2, 3].

В даний час технології із застосуванням гідродинамічної кавітації показують високі результати трансформації твердих і рідких середовищ. Ці технології застосовуються для приготування гомогенних розчинів, емульсій, суспензій та високодисперсних сумішей з різних матеріалів, змішування важко змішуваних середовищ або середовищ, які майже не змішуються. Важливо, що використання технології кавітації забезпечує проведення екологічно безпечних тепломасообмінних процесів на мікро- і нанорівнях, оскільки хімічні каталізатори в процесі обробки сировини не використовуються [4-6].

Метою роботи є дослідження впливу кавітаційних ефектів при екстрагуванні рослинної сировини.

Матеріали та методи. В дослідженнях використовувались кавітаційні реактори типу трубки Вентурі з горловинами сопел від 0,006 м до 0,12 м. Дослідні проби відбирались через 3, 9, 15, 30 циклів. В якості рослинної сировини обрано квітки нагідок (календули лікарської), екстрагентом була використана дистильована вода. Ефективність екстрагування визначали за кількістю сухих речовин в екстракті.

Результати та обговорення. Для гідромеханічних процесів (диспергування, гомогенізації, емульгування) інтенсифікація здійснюється при досягненні високої питомої потужності $W_{еф}$. Якщо позначити потужність, що вводиться через W_o, то оптимальний рівень інтенсифікації при $W_{еф} = W_o/V_{лок}$ можна досягти

за рахунок посилення потужності або зменшення об'єму локальної зони. Збільшення робочого об'єму апарату призводить до збільшення тривалості обробки дисперсії через багатократну рециркуляцію рідини з пасивної зони в активну і великими непродуктивними втратами енергії. При зменшенні об'єму локальної зони зменшується продуктивність, збільшується тривалість процесу обробки і питомі енерговитрати, тому робочий об'єм апарата не має сильно перевищувати об'єм активної зони. Водночас, при введенні енергії дискретно в кожну з активних зон, тривалість обробки буде мінімальною і найбільш ефективною [6, 7].

Кавітаційні явища *супроводжуються швидким перетворенням енергії з однієї форми в іншу,* а локалізована енергетична дія проявляється у вигляді *короткочасних дискретних імпульсів високої потужності. Таким чином, використання кавітаційних ефектів є одним із шляхів* зменшення непродуктивних енерговитрат. Застосування кавітаційних пристроїв при екстрагуванні, через сильні динамічні ефекти, що виникають в результаті інтенсивного розвитку бульбашок і бульбашкових систем доцільно проводити на стадії підготовки до приготування активованого екстрагента, або на стадії проведення безпосередньо екстрагування [6, 7, 8].

Для проведення досліджень і визначення ефективності впливу ефектів гідродинамічної кавітації при проведенні масообмінних процесів при екстрагуванні рослинної сировини був використаний експериментальний стенд з кавітаційним змішувачем типу трубки Вентурі. Конструкція апарату, геометричні параметри виконання сопла, параметри течії (абсолютний тиск і швидкість), критичний тиск $P_{кав}$, а також властивості матеріалу мають суттєвий вплив на гідродинамічні умови проведення кавітаційної обробки і на розвиток кавітаційних ефектів. Його профіль виконання і геометричні розміри можуть змінюватись у залежності від поставленої мети і властивостей сировини.

Були проведені дослідження по впливу тривалості екстрагування в кавітаційному змішувачі на вихід сухих речовин в екстракт при різних значеннях чисел кавітації. Отримані результати свідчать, що збільшення тривалості екстрагування в кавітаційному змішувачі призводить до збільшення вмісту сухих речовин в усіх зразках. Найбільшою інтенсивністю характеризуються масообмінні процеси, які відбуваються під впливом кавітаційної обробки впродовж перших 15 циклів для всіх дослідних зразків. При подальшій обробці інтенсивність масообмінних процесів поступово знижується. Збільшення діаметру горловини сопла, а відповідно і числа кавітації, призводить до зменшення інтенсивності масообмінних процесів, що призводить до зменшення приросту кількості СР в екстракті. Найменші значення кількості СР в екстракті спостерігались у зразка, отриманого в результаті обробки в соплі з найбільшим числом кавітації рівним 1,36. Процес екстрагування з найменшим числом кавітації (діаметр горловини сопла 6 мм) відбувався найбільш ефективно, але при цьому, через високу дисперсність через 15 циклів обробки отриманого зразка, був ускладнений процес його фільтрування. Дослідження показали високу ефективність кавітаційної обробки на масообмінні процеси при екстрагуванні водної суспензії квіток нагідок лікарських.

Висновки. Використання гідродинамічної кавітації при екстрагуванні дозволяє ефективно провести процес диспергування рослинної суспензії із активним руйнуванням клітинних стінок, які характеризуються високою міцністю, інтенсифікувати масообмінні процеси, збільшити кількість виділених БАР, зменшити тривалість і енерговитрати при проведенні процесу.

Геометрія трубки Вентурі має значний вплив на інтенсивність масообміну при екстрагуванні методом гідродинамічної кавітації. Соплу з мінімальним діаметром горловини сопла (6 мм) відповідає найменше число кавітації, що свідчить про найбільшу ефективність диспергування, але висока дисперсність отриманої суспензії ускладнює відділення нерозчинних речовин з екстракту. У наших дослідженнях було встановлено, що раціональним є використання сопла з діаметром 8 мм та 10 мм. Тривалість обробки має становити не більше ніж 60 циклів, щоб уникнути перегріву суміші та запобігти критичного показника дисперсності при якому процес фільтрування і розділення екстракту від виснаженої сировини значно ускладняється.

Список використаної літератури:

1. Benincá C., Pacheco Ortiz R., Gonçalves F., Martins M., Mangrich A., Zanoelo E.Pressure cycling extraction as an alternative to percolation for production of instant coffee, Separation and Purification Technology, 2016, V. 164. P. 163-169
2. Oscar Zannou, Hojjat Pashazadeh, Salam A. Ibrahim, Ilkay Koca, Charis M. Galanakis, Green and highly extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from kinkeliba (Combretum micranthum G. Don) by natural deep eutectic solvents (NADESs) using maceration, ultrasound-assisted extraction and homogenate-assisted extraction, Arabian Journal of Chemistry, 2022, V. 15, Is.5, 103752
3. Hasan M. M. N., Karim M. R., Haseeb A. S. M. A., and Akanda H. M., Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from medicinal plants: A review, Journal of Food and Drug Analysis, vol. 26, no. 3, pp. 705-714, 2018.
4. B. Ravishankar, K. G. Gurudatt, and B. N. Raghunandan, Cavitation assisted extraction of bioactive compounds from plants - A review, Journal of Food Science and Technology, vol. 52, no. 6, pp. 3158-3167, 2015.
5. Mahdi Jafarian M., Saeid Hosseini S., and Barzegar F., Cavitation-assisted extraction of bioactive compounds from plants: A review, Journal of Herbal Medicine, vol. 12, pp. 1-10, 2018.
6. Долінський А.А., Авдєєва Л.Ю., Макаренко А.А. Кавітаційні технології для виробництва нанопрепаратів. Київ: Наук. Думка. 2020. 112 с.
7. Долинский А.А. Иваницкий Г.К. Тепломассообмен и гидродинамика в парожидкостных диспресных середах. Київ: *Наукова думка,* 2008. 382 с.
8. Процеси та обладнання глибокої переробки ораганічної сировини: конспект лекцій [Електронний ресурс] : навч. посіб. для студ. спеціальності 133 Галузеве машинобудування, освітня програма підготовки «Комп'ютерно-інтегровані технології проектування обладнання хімічної інженерії» / КПІ ім. Ігоря Сікорського; уклад.:Г.К. Іваницький, А.Р. Степанюк – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2021. – 292 с.

ВПЛИВ УЛЬТРАЗВУКУ НА ПРОЦЕС ІНТЕНСИФІКАЦІЇ РУХУ НАСІННЯ

Опрофат В.О., Мельник В.М., Косова В.П.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, v.melnyk71@gmail.com

Вступ. Пошуки методів підвищення врожайності рослин завжди актуальні, серед них особливу увагу займають способи передпосівної стимуляції насіння. З'ясувалося, що для збільшення врожайності можна проводити оброблення насіння перед посівом хімічними речовинами, піддаючи їх механічному або термічному впливу, впливу іонізуючих та неіонізуючих випромінювань, а також ультразвуку [1].

Дослідження з вивчення ультразвукового впливу на продуктивність і посівні якості насіння проводилися з 1994 року, шляхом постановки та проведення лабораторних та польових дослідів.

Для досліджень насіння, випробувані культури обробляли ультразвуком різної частоти та часу дії. В лабораторних дослідах визначали, відповідно до вимог ГОСТу, схожість і енергію проростання насіння [2].

Тобто експериментальним методом було доведено, що швидкість проростання та врожайність обробленого ультразвуком насіння зростає.

Не менш важливим фактором є забезпечення надійної роботи обладнання для передпосівної обробки насіння. Це, в свою чергу, здійснює суттєвий вплив у технології вирощування сільськогосподарських культур та покращує врожайність. Таким чином, пошук шляхів вдосконалення такого обладнання є актуальним і по тепер.

Метою є моделювання шнекового апарату неперервної дії для ультразвукової обробки насіння.

Для досягнення поставленої мети було поставлено такі завдання:

1. Задати час тривалості обробки насіння.
2. Зробити комп'ютерне моделювання шнекового конвеєру для ультразвукової обробки насіння при різних кутах нахилу шнека.

Об'єктом дослідження є шнековий екструдер для ультразвукової обробки насіння.

Предметом дослідження є вплив тривалості опромінення на розвиток насіння та забезпечення роботи апарату під відповідним кутом нахилу шнеку.

Матеріали та методи. Розглянемо 3D модель шнекового екструдера, яка може бути одним із шляхів вдосконалення устаткування та одночасно сприяти підвищенню продуктивності. При дослідженні використовувалося насіння льону. Експеримент проводився протягом 15 днів. Насіння піддавалося впливу ультразвуку протягом 5, 15 та 30 хвилин. При обробці ультразвуком насіння знезаражується, покривається мікротріщинками від 1 до 10 мікрон, що веде до збільшення надходження води та повітря до насіння, також прискорюється проростання насіння [3]..

На рис. 1 побудовано графік росту насіння протягом 15-ти днів проведення експерименту.

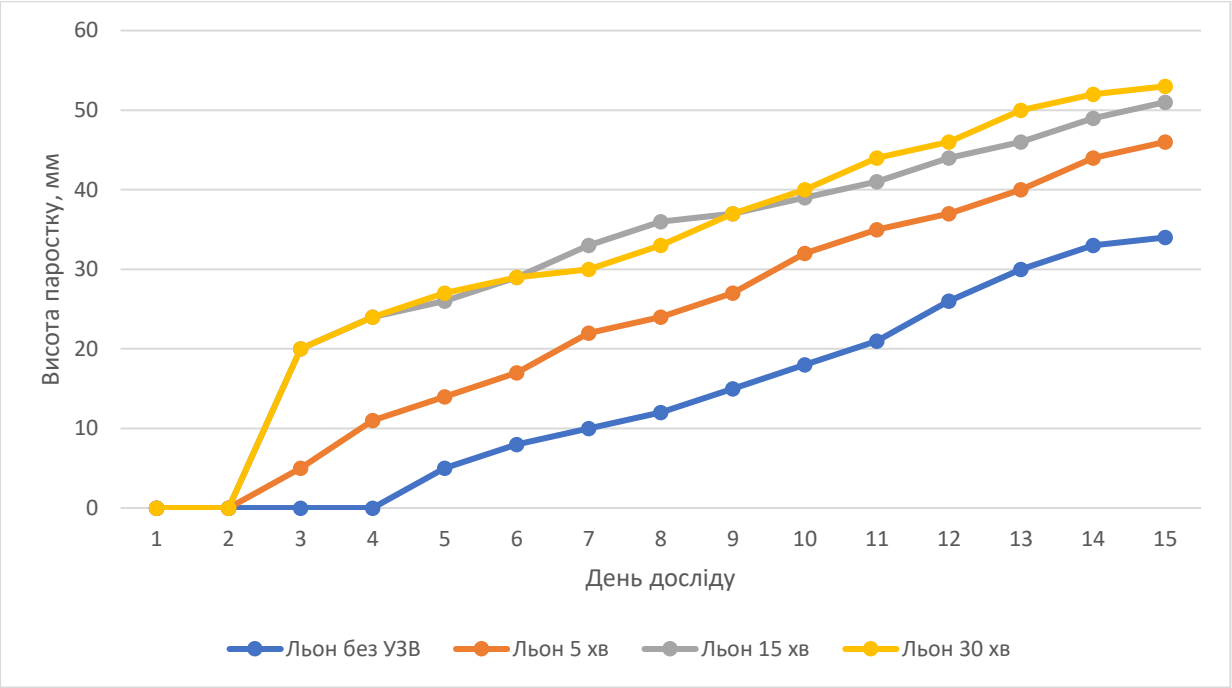


Рис. 1. Графік росту насіння льону протягом досліду після ультразвукової обробки

Досліджувалась залежність швидкості руху зерен після ультразвукової обробки від кута нахилу шнекового екструдера. Для проведення та моделювання цього випробування було використано один з модулів програми SolidWorks, а саме Flow Simulation [4, 5].

Завдяки цьому модулю, було змодельовано швидкість руху насіння в шнековому екструдері при різних кутах нахилу шнека, а саме 0°, 5°, 10° та 15°. Результати моделювання представлені на рис. 2 - рис.5.

Результати та обговорення. Під дією гвинтової поверхні шнекового екструдера транспортований матеріал рухається не паралельно його осі, а по гвинтовій лінії з перемінною швидкістю у осьовому і радіальному напрямках залежно від того, на якій відстані знаходиться частинка матеріалу від осі шнека, а також від коефіцієнта тертя і реактивного тиску [6, 7].

У зв'язку з тим, що кути підйому гвинтових ліній поверхні шнекового екструдера змінюються, збільшуючись від периферії до центру шнека, то переміщення частинок матеріалу, розміщених в радіальному напрямку вздовж осі, буде не однаковим.

Отже, при нахилі шнеку збільшується швидкість руху оброблюваного зерна в бункері та на виході з транспортера, але в той же час зменшується кількість зерна в барабані.

Висновки. Ультразвукова обробка зерна та насіння перед посадкою інтенсифікує процес проростання, підвищує врожайність різних культур у середньому на 20-40%. При обробці насіння ультразвуком у нього можна вносити необхідні мікроелементи, знищувати збудників хвороб і шкідників, активізувати ферменти.

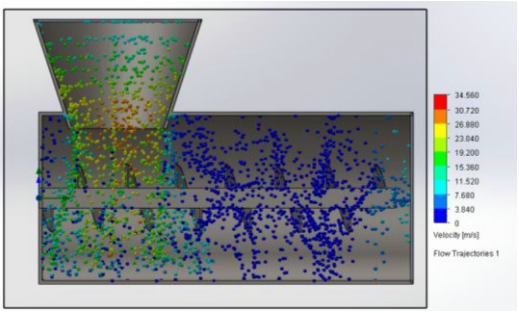


Рис. 2. Швидкість руху зерен при куті нахилу шнекового екструдера 0°

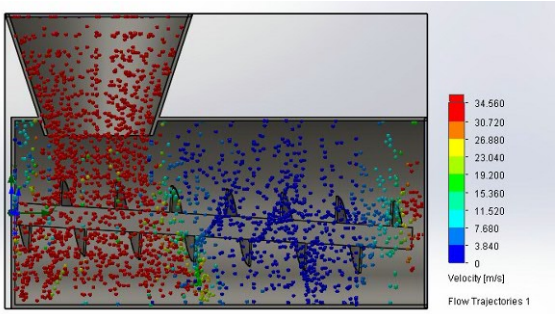


Рис. 3. Швидкість руху зерен при куті нахилу шнекового екструдера 5°

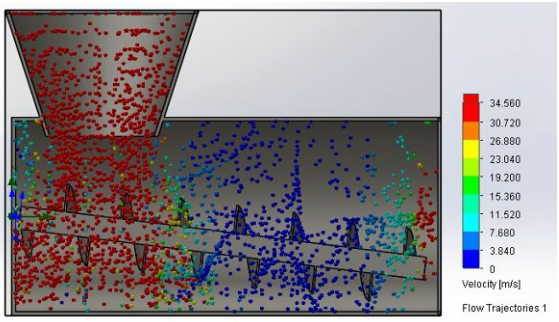


Рис. 4. Швидкість руху зерен при куті нахилу шнекового екструдера 10°

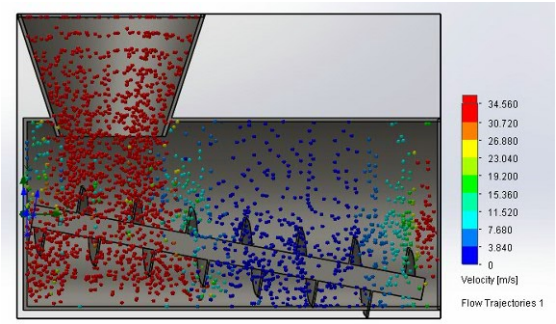


Рис. 5. Швидкість руху зерен при куті нахилу шнекового екструдера 15°

Було виконано комп'ютерне моделювання шнекового транспортеру у програмі SolidWorks. Після впливу ультразвуку на насіння, було змоделювано швидкість потоку зерен у транспортері при різних кутах нахилу шнека. Оптимальним кутом нахилу шнеку можна вважати кут у 5°.

Список використаної літератури:

1. Мельник В. М., Ружинська Л. І., Фесенко С. В., Ільєнко В. В. Вплив ультразвукового випромінювання на ріст зернових культур // Міжнародний науковий журнал "Інтернаука". — 2018. — №20. https://doi.org/10.25313/2520-2057-2018-20-4423

2. Мельник В.М., Ружинська Л.І., Андрук М.М., Остапенко Ж.І. Математичне моделювання гідродинаміки та масообміну при екстракції БАР з рослинної сировини/ Multidisciplinary International scientific journal "Internauka". - 2018. - №9 (49). - С. 72-77.

3. Korobiichuk I., Mel'nick V., Ostapenko Zh., Ruzhinska L. INVESTIGATION OF HEAT AND MASS TRANSFER PROCESSES IN THE EXTRACTION OF VEGETABLE RAW MATERIALS UNDER THE CONDITIONS OF ULTRASOUND // 22nd International Scientific Multidisciplinary Conference on Earth and Planetary Sciences SGEM 2022 2–11 July, 2022.

4. Обладнання підприємств переробної та харчової промисловості / [І. С. Гулий, М. М. Пушанко, Л. О. Орлов та ін.]. – Вінниця: Нова книга, 2001. – 576 с.

5. Мельник В.М. Вплив ультразвуку у вібраціно-акустичному екстракторі// East European Scientific Journal/ Технічні науки. №1(41) 2019. Т. 4. С. 16-20

6. Мельник В.М. Інтенсифікація росту клітин у ферментерах // Міжнародний науковий журнал "Інтернаука". - 2019. - №7

7. Карачун В.В., Мельник В.М., Фесенко С.В. Дифракція звукових хвиль на металевому кільці/ Технологічний аудит та резерви виробництва. - 2016. №6/2(32). - С. 4-8.

ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ УТВОРЕННЯ КАВІТАЦІЙНИХ БУЛЬБАШОК ВІД ЧАСТОТИ УЛЬТРАЗВУКОВИХ КОЛИВАНЬ

Остапенко Ж.І., Волошенко І.В.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, zhanna.ost@gmail.com

Вступ. Ультразвукові хвилі можуть викликати кавітацію в рідині, що призводить до утворення кавітаційних бульбашок. Коли бульбашки розриваються, вони можуть створювати місцеві зони високого тиску та температури, що можуть призвести до різноманітних хімічних та фізичних ефектів.

Кавітаційні бульбашки виникають у наслідок швидкої зміни тиску в рідині, що призводить до їх утворення та розриву. Цей процес відбувається дуже швидко, тому що енергія, необхідна для утворення кавітаційної бульбашки, є відносно великою. Час існування кавітаційної бульбашки дуже короткий і залежить від багатьох факторів.

Утворення та динаміка кавітаційних бульбашок в рідинах - це складний процес, та при певних налаштуванні ультразвукового обладнання можна регулювати розміри та форму кавітаційних бульбашок.

Метою роботи є встановлення залежностей між частотою ультразвукових коливань і параметрів кавітаційної бульбашки.

Матеріали та методи. Ультразвукова кавітація в рідині – це процес утворення кавітаційних бульбашок в рідинах під дією ультразвукового випромінювання. Енергія, утворена ультразвуковими хвилями здатна знижувати тиск у рідинах, що в свою чергу може провокувати утворення порожнин або бульбашок.

Ультразвукова кавітація використовується в багатьох галузях, включаючи хімічну та біологічну обробку рідин, очищення води, розчинення твердих речовин у рідинах, зміну властивостей матеріалів, тощо. Ультразвукові коливання можуть підвищувати ефективність процесів, що відбуваються в рідині, та зменшувати вплив шкідливих факторів на довкілля.

Під час проходження ультразвукових хвиль через рідину, вони можуть створювати кавітаційні бульбашки. Коли бульбашка досягає максимального розміру, вона може розриватися в результаті тиску пару, що утворюється всередині неї. Цей процес називається кавітаційним розривом.

Максимальний радіус кавітаційної бульбашки може досягати величини від кількох мікрометрів до декількох міліметрів та залежить від багатьох факторів, включаючи частоту ультразвуку, амплітуду коливань, в'язкість рідини та інші параметри.

Максимальний радіус кавітаційної бульбашки визначаємо за формулою, м [1,2]:

$$R_{\max} = \frac{0,4}{f} \cdot \left(1 - \frac{P_{cm}}{P_{m0\min}}\right) \cdot \sqrt{\frac{P_{m0\min}}{\rho}},$$

де P_{cm} - гідростатичний тиск, Па.

P_{m0min} – мінімальна амплітуда звукового тиску, Па;

ρ - густина рідини, кг/м^3.

Тривалість існування кавітаційної бульбашки залежить від багатьох факторів, таких як розмір бульбашки, тиск, температура та хімічний склад рідини, амплітуда та частота ультразвукових хвиль.

В загальному час існування кавітаційної бульбашки можна розділити на наступні етапи:

1. Час розширення, протягом якого бульбашка збільшує свій розмір під впливом ультразвукової хвилі.

2. Час зхлопування, коли тиск пару всередині бульбашки стає достатньо великим, щоб подолати силу поверхневого натягу.

Час розширення кавітаційної бульбашки визначаємо за формулою, с [1]:

$$t_{розш} = \frac{0,4}{f} \cdot \left(1,9 - \frac{P_{ст}}{P_{m0\min}}\right),$$

де f – частота ультразвукових коливань, Гц;

Час зхлопування бульбашки визначаємо за рівнянням, с [3]:

$$t_{зх} = \frac{0,36}{f}\left(1 - \frac{P_{ст}}{P_{m0\min}}\right) \cdot \left[2,9 \cdot \frac{P_{ст}}{P_{m0\min}} - 3,4\left(\frac{P_{ст}}{P_{m0\min}}\right)^2 + 0,6\right]^{-1/2}.$$

Результати та обговорення. Дослідження впливу частоти ультразвукових коливань проводились для води. Відомо, що для води оптимальна частота для виникнення кавітації становить 20-50 кГц.

В таблиці 1 представлені результати розрахунків максимального радіусу кавітаційної бульбашки та часу розширення та зхлопування кавітаційної бульбашки.

Таблиця 1. Розраховані величини

f, *кГц*	$t_{зх} \cdot 10^5$, *с*	$t_{розш} \cdot 10^4$, *с*	$R_{max} \cdot 10^4$, *м*
20	1,452	3,43	1,696
25	1,162	2,744	1,356
30	0,968	2,286	1,13
35	0,829	1,96	0,9689
40	0,726	1,715	0,8478
45	0,645	1,524	0,7536
50	0,581	1,372	0,6782

За результатами проведених досліджень встановлено, зі збільшенням частоти ультразвукових коливань максимальний радіус, час розширення та зхлопування кавітаційної бульбашки зменшується, причому на менших частотах (20-30 кГц) параметри зменшуються більш стрімко.

На Рис. 1 представлено залежність часу розширення і зхлопування кавітаційної бульбашки від максимального радіусу.

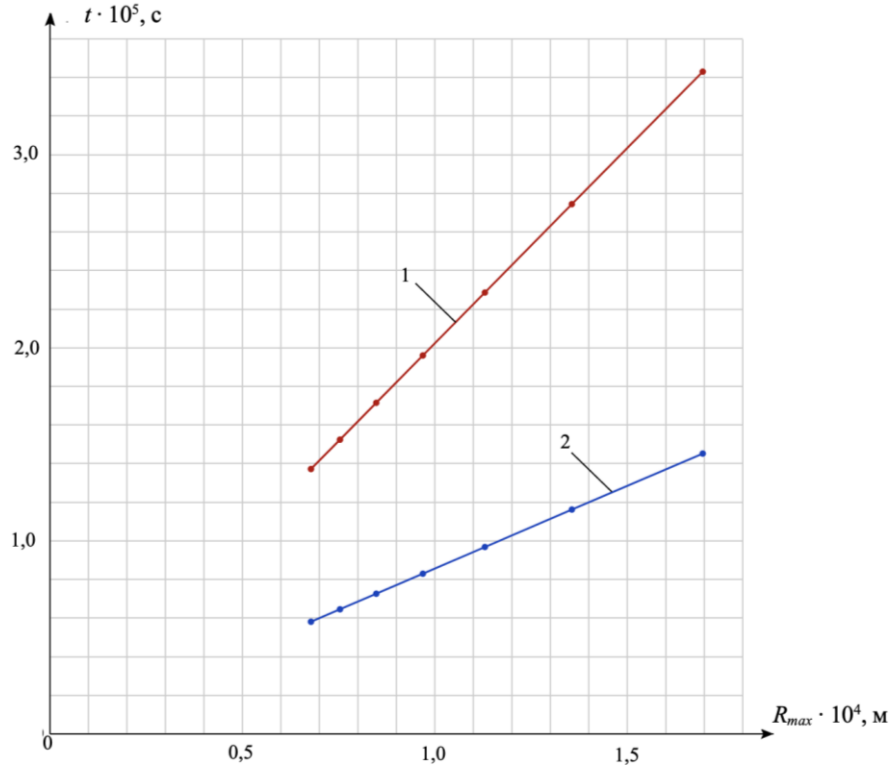


Рис. 1. Залежність часу від максимального радіусу кавітаційної бульбашки:
1 – час розширення кавітаційної бульбашки;
2 – час зхлопування кавітаційної бульбашки

Отримані залежності показують, що зі збільшенням розміру кавітаційної бульбашки при низьких частотах, час розширення та зхлопування зростає, а отже збільшується час її існування в рідині.

Висновки. У ході дослідження було визначено залежність максимального радіусу кавітаційної бульбашки у воді, час її розширення та зхлопування від частоти ультразвукових коливань.

Встановлено, що зі збільшенням частоти ультразвукових коливань максимальний радіус кавітаційної бульбашки зменшується, крім того зменшується час зростання бульбашки і час її зхлопування. Ці явища призводять до збільшення частоти виникнення ударних хвиль при зхопуванні бульбашок і інтенсифікації процесів тепломасопереносу в апаратурі, де використовуються ультразвукова кавітація.

Список використаної літератури:

1. Ostapenko Zh. Determination of the influence of the sound capillary effect on the process of soaking vegetable raw materials in the acoustic extractor // Technology audit and production reserves. 2023. № 1/3 (69). P. 31–38.

2. Розина Е. Ю. Кавітаційний режим звукокапілярного ефекту // Акустичний вісник. 2003. Том 6, №1. С. 48–59.

ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАГЕНТІВ НА ВИНИКНЕННЯ УЛЬТРАЗВУКОВОЇ КАВІТАЦІЇ ПРИ ЕКСТРАГУВАННІ БАР З РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Остапенко Ж.І., Ружинська Л.І.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, zhanna.ost@gmail.com

Вступ. Ультразвукова кавітація може виникнути в рідині або газі при наявності акустичних хвиль з достатньо високою інтенсивністю. Зазвичай ця інтенсивність становить 10 - 100 Вт/см^2 і залежить від таких факторів, як частота ультразвуку, тиск, температура і склад рідини.

В процесі ультразвукової кавітації наявні в рідині газові бульбашки можуть зменшуватись в розмірі, зриватись або об'єднуватись, що призводить до створення тиску. Виниклий тиск може призвести до розриву міцних зав’язків в рідині або газі. Цей процес може спричиняти різні хімічні і фізичні ефекти, такі як видалення забруднень з поверхні, зміна розміру частинок, підвищення температури та інші.

Ультразвукова кавітація є відомим методом інтенсифікації процесу екстрагування в системі тверде тіло – рідина. При екстрагування біологічно активних речовин (БАР) з рослинної сировини найбільш поширеними екстрагентами виступають вода та розчини етанолу різної концентрації.

Метою дослідження є встановлення впливу фізичних властивостей екстрагентів на виникнення ультразвукової кавітації.

Матеріали та методи. Процес екстрагування БАР з рослинної сировини пов'язаний з проникненням екстрагенту в сировину під впливом капілярних сил. Характерною особливістю рослинної сировини є велика кількість пор капілярного типу. Проникнення екстрагенту в сировину відбувається по капілярах і призводить до заповнення в ній клітин і пустот. Процес заповнення капілярів і пустот клітин екстрагентом може бути досить тривалим і суттєво збільшувати час екстрагування в цілому. [1]

Екстрагування фітопрепаратів проводять переважно з подрібненого і висушеного рослинного матеріалу. При сушінні в рослинних матеріалах відбуваються зміни. Клітковий сік перетворюється в сухий залишок, внутрішня частина клітини заповнена повітрям. Стінки клітини і мембрани органоїдів клітини після сушіння перетворюються в пористі перетинки. В процесі попереднього намочування проникнення екстрагента в сировину відбувається за рахунок капілярних сил. Намочування зв’язане з швидкістю витиснення повітря з клітин.

Одним з ефектів, що спостерігається при використанні ультразвукового випромінювання, є прискорення проникнення екстрагента в сировину. Під дією кавітації, що виникає в ультразвуковому полі, проникнення екстрагента у вузькі порожнини і щілини прискорюється і поглиблюється.

Фізичні властивості рідини можуть впливати на виникнення ультразвукової кавітації, оскільки вони визначають поведінку рідини під дією ультразвукових хвиль.

Густина та поверхневий натяг рідини можуть впливати на формування та розпад бульбашок газу. Наприклад, рідини з високою густиною можуть мати меншу кількість бульбашок газу, оскільки вони не можуть легко змінювати свою форму. З іншого боку, рідини з високим поверхневим натягом можуть мати більше бульбашок газу, оскільки цей ефект може сприяти формуванню бульбашок.

Для виникнення ультразвукової кавітації в рідині повинні бути парогазові бульбашки, розмір яких перевищує $R_{кр}, м$ [2]:

$$R_{кр} = \sqrt{3} \cdot R_o \cdot \left[\frac{R_o}{2\sigma} \cdot \left(P_{ст} + \frac{2\sigma}{R_o} \right) \right]^{1/2},$$

де $P_{ст}$ - гідростатичний тиск, Па;

σ - коефіцієнт поверхневого натягу екстрагента, Н/м;

R_o - початковий радіус бульбашки, м.

На виникнення ультразвукової кавітації також впливає значення густини акустичної енергії $W_{уз}$, Дж/м^3, що відображає кількість енергії, що переноситься звуковою хвилею через певний об'єм простору [2]:

$$W_{уз} = \frac{P_{то}}{2 \cdot \rho \cdot c^2},$$

де $P_{то}$ – амплітуда тиску звукової хвилі на рівні зрізу капіляру, Па;

ρ – густина екстрагенту, кг/м^3;

c – швидкість звуку в екстрагенті, м/с.

Результати та обговорення. На рисунках 1 та представлено результати розрахунків мінімального радіусу бульбашки, здатної до росту та густини акустичної енергії.

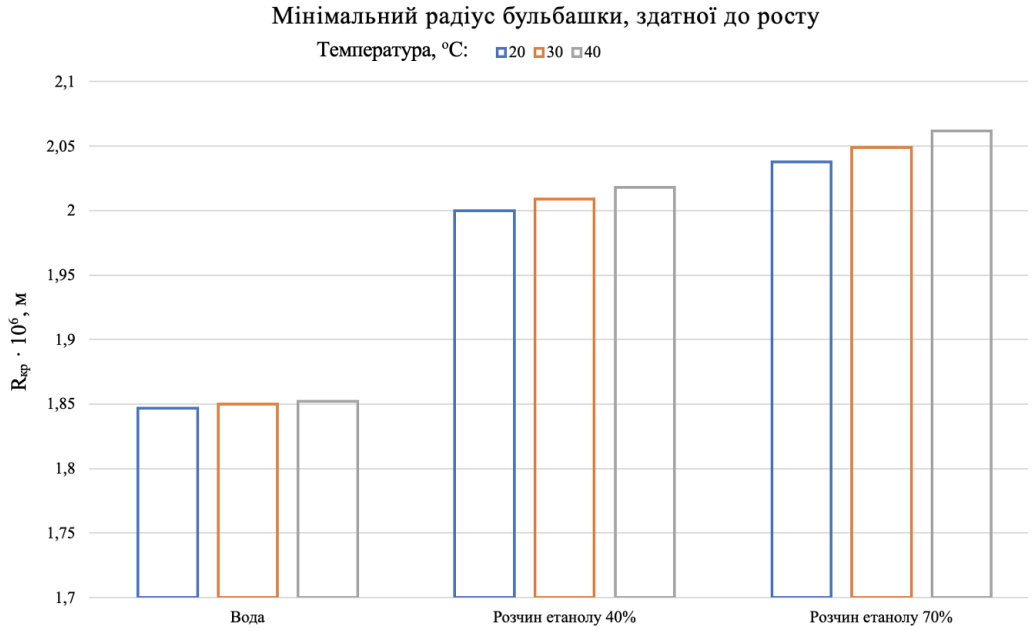


Рис.1. Значення мінімальних радіусів бульбашки, здатної до росту для різних екстрагентів

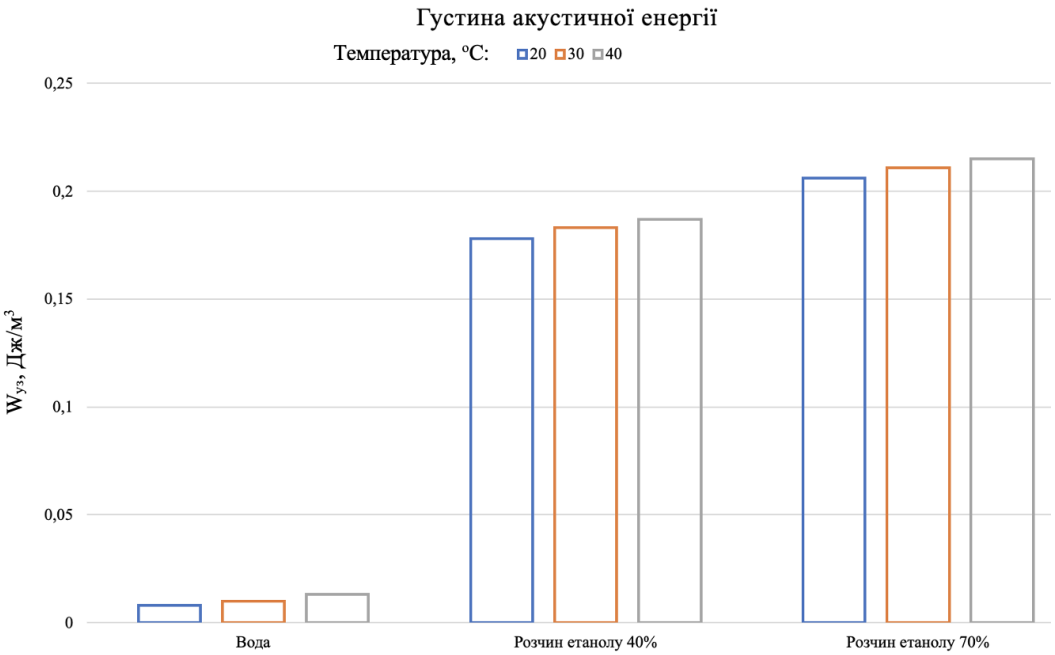


Рис.2. Значення густини акустичної енергії для різних екстрагентів

Під дією ультразвукового випромінювання може відбуватися підвищення температури рідини, внаслідок створення високотемпературних точок, а також дисипації ультразвукової енергії в рідині. Відомо, що зі збільшенням температури значення фізичних властивості рідин, таких як вода та розчини етанолу зменшуються [3]. Результати, отримані внаслідок числового експерименту, показують, що зі збільшенням температури зростають значень розрахованих величин.

Висновки. Проведені дослідження, які дозволяють встановити умови виникнення ультразвукової кавітації у воді та розчинах етанолу різної концентрації. Проаналізовано вплив фізичних властивостей рідин на величину мінімальних радіусів бульбашки, здатної до росту, та густину акустичної енергії.

Показано, що в результаті зростанням температури і зменшенням густини рідин, збільшується радіус мінімальної бульбашки, здатної до росту. Внаслідок зменшення поверхневого натягу рідин зростає значення густини акустичної енергії.

Список використаної літератури:

1. Розина Е. Ю. Кавітаційний режим звукокапілярного ефекту // Акустичний вісник. 2003. Том 6, №1. С. 48–59.

2. Ostapenko Zh. Determination of the influence of the sound capillary effect on the process of soaking vegetable raw materials in the acoustic extractor // Technology audit and production reserves. 2023. № 1/3 (69). P. 31–38.

3. Сидоров Ю.І., Влязло Р.Й., Новіков В.П. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування: навч. посіб. Львів: «Інтелект-Захід», 2008. 736 с.

ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ТЕРМІНАЛЬНОЇ СТЕРИЛІЗУЮЧОЇ ФІЛЬТРАЦІЇ У ВИРОБНИЦТВІ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Пшенична В. О., Поводзинський В.М.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, vnpovodzinski@ukr.net

Вступ. Виробництво лікарських засобів (далі ЛЗ) із застосуванням біологічних діючих речовин найбільш відоме у технологіях медичних імунобіологічних препаратів (далі – МІБП), які представлені вакцинами, сироватками, анатоксинами, імуноглобулінами тощо [1].

Метою публікації є представлення аргументації про те, що професійна діяльність фахівців з фармацевтичної біотехнології обумовлюється компетенціями в сфері проєктування об'єктів виробничої діяльності при усвідомленому використанні фахової нормативно-технічної документації (далі НТД). Невід'ємною складовою у прийнятті коректних технологічних та технічних рішень є уміння щодо представлення науково-технічного обґрунтування.

Актуальність полягає у тому, що створення нових виробництв, коректне обслуговування, проведення реконструкції або технічне переоснащення діючих виробництв, цехів або ділянок починається з найбільш показового елементу проєктування, а саме з передпроєктних робіт, в яких центральне місце займає розробка технічного завдання (далі ТЗ) та фармацевтичної розробки (далі ФР).

Матеріали та методи. На підставі аналізу чинної в Україні НТД, що визначає вимоги до технологічного та технічного оформлення процесів у виробництві МІБП здійснений аналіз типових технологічних рішень та наведений алгоритм щодо проведення обґрунтування при виборі та конструюванні обладнання. Специфічною особливістю вимог до обладнання у виробництві МІБП, що обумовлює особливості ТЗ, є присутність біологічних агентів (далі БА) та діючих речовин біологічного походження [2].

Результати та обговорення. У виробництві МІБП в якості обґрунтування технологічних, фармацевтичних та конструкторських дій розробляється документація у вигляді ТЗ та ФР [3]. ТЗ та ФР представляють основу фармацевтичного інжинірингу і їх практична реалізація починається з формування технологічних рішень, які залежать від характеристики лікарського засобу. В свою чергу фармацевтична розробка представляє наукове обґрунтування способів та методів, що призводять до отримання продукції гарантованої якості, доведеної ефективності та встановленої безпеки. МІБП займають ексклюзивне місце серед ЛЗ і мають важливу загальну фармацевтичну ознаку – вони є парентеральною формою, для якої характерні високі вимоги до асептичності. При формуванні ТЗ та ФР у виробництві МІБП типовим технологічним рішенням є використання стерилізуючої фільтрації (далі СФ). Це технологічне рішення означене у Належній виробничій практиці (далі НВП), розділ «Фільтрація лікарських засобів, які не можуть бути простерилізовані в остаточному первинному пакованні» [1].

Наведемо приклад науково-технічної аргументації, що потрібна для вибору технології та відповідного їй обладнання при виборі фільтрів СФ [2,4].

1. *Ефективність деконтамінації*. В даному випадку не бажано користуватись терміном стерильність. Чому? Термін «стерильність» означає повну відсутність життєздатної мікрофлори (контрольний показник – колонієутворюючі одиниці – КУО = 0). Такого стану можна досягти, наприклад при термічній стерилізації тоді, коли час термічного впливу наближається до нескінченності. Так як кінетика деконтамінації описується експоненційною функцією, тому можна говорити лише про ймовірність присутності мікроорганізмів у досліджуваному об'єкті. Імовірність може бути дуже малою, але вона ніколи не може дорівнювати нулю. Імовірність може бути виражена як *рівень забезпечення стерильності* (sterility assurance level – SAL) і визначає ефективність стерилізаційної процедури. Наприклад для ЛЗ внутрішньом'язевого введення $SAL=10^{-6}$, що означає імовірність присутності КУО менше одиниці для 1 млн. одиниць паковання.

2. *Обгрунтування вибору типу фільтра по його технічним характеристикам (діаметр пори)*. У НВП для виконання маніпуляцій на стадії СФ визначено що «…розчини або рідини можуть бути профільтровані через стерильний фільтр із номінальним розміром пори 0,22 мкм (або менше)…». Ця вимога обумовлена тим, що деконтамінуючі властивості мембран з такою характеристикою мають високу ефективність для видалення клітин тестової культури *Brevundimonas(Pseudomonas) diminuta* ATCC 19146. Суттєвою особливістю, про що не згадується у НВП, є те що ця технологічна стадія або проведення валідації коректна при навантаженні по тестовій культурі у межах 10^7 КУО/см^2 фільтрувальної поверхні. В умовах виробництва припускається біологічне навантаження (вміст КУО у рідині до стерилізуючої фільтрації) на рівні 10 КУО/100 мл. Наразі набувають широкого розповсюдження мембрани з розміром пор 0,1 мкм (Virosart® HF, Virosart® HC, Virosart® CPV фірми Sartorius).

Для тестування цих фільтрів використовують мікоплазми *Acholeplasma laidlawii* при їх концентрації 10^7 КУО/см^2 фільтрувальної поверхні.

3. *Вибір конструкції та матеріалу фільтра.* Обгрунтування вибору конструкції достатньо обмежений, але базовий тезис полягає у тому що вибір здійснюється з двох типових конструкцій, що мають місце у СФ. Це фільтри глибинного та мембранного типу. Типовим технологічним рішенням є використання поточного фільтрування із застосуванням фільтрів глибинного типу з розміром пори 0,45 мкм, як фільтрів попередньої очистки з фінішною деконтамінацією на мембранному фільтрі з прою 0,20/0,22 мкм [2,4].

Матеріали для фільтрів глибинного та мембранного типу. Найбільш вживаними є Nylon (нейлон), MSE (змішаний ефір целюлози), PES (поліефірсульфон), PP (поліпропілен), PTFE (політетрафторетилен, тефлон), PVDF (полівініліденфторид). При виборі матеріалу фільтрувальної мембрани потрібно враховувати те, що матеріали характеризуються різною гідрофільністю і гідрофобністю.

Глибинні фільтри. Фільтри цієї групи характеризуються складним механізмом затримання і здебільшого непостійним розміром часу. У

промисловості глибинні фільтри найчастіше виготовляються із поліпропілену, скловолокна та їх комбінації.

Конструкція. Основний елемент фільтра – фільтруючий елемент, який виготовляється із численних шарів волокнистих матеріалів – поліпропілену, скловолокна, целюлози, а також тонких сіток із нержавіючої сталі. Залежно від товщини фільтруючого шару глибинні фільтри затримують 95-99% всіх частинок, розмір яких більший за рейтинг фільтра (0,5 до 100 мкм).

Мембранні фільтри. Фільтри цієї групи характеризуються ситовим механізмом затримання мікроорганізмів та постійним розміром пір. Мембрани для фільтруючої стерилізації є тонкими полімерними плівками, товщиною 10 - 30 мкм, з рейтингом 0,22 мкм для асептичної фільтрації або 0,45 мкм для подальшої термінальної стерилізації. Для формування ТЗ та ФР потрібно пам'ятати що технологічне і технічне оформлення стадії стерилізуючої фільтрації як правило включає установку, де використовується ємність з напівпродуктом, фільтротримач із змінним або змінними картріджами пластинчастого або фільтр-патронного типу та джерело створення рушійної сили процесу (насос або компресор).

4. *Стерилізація мембранних фільтрів*. У НВП визначено, що для СФ використовують *стерильний фільтр*, який пройшов термічну (парову), хімічну стерилізацію (етиленоксид, формальдегід) або стерилізацію опроміненням.

5. *До обов'язкових параметрів контролю відноситься перевірка фільтра на цілісність до і після його експлуатації.* Перевірку проводять методом «Точка бульбашки» або «Дифузійний потік», який здійснюється на приладах перевірки цілісності фільтра, наприклад INTEGRITEST 4 FILTER, Sartocheck® 4 plus.

Висновки. Виробництво МІБП реалізується при забезпеченні високого рівня асептичності. Проєктування виробництва та розробка конструкції обладнання можливі при виконанні коректних передпроєктних дій по розробці ТЗ та ФР, в яких високий рівень відповідальності має стадія стерилізуючої фільтрації. У даній розробці наведені ті впливові наукові особливості стерилізуючої фільтрації, що забезпечують виробництво лікарського засобу гарантованої якості, доведеної ефективності та встановленої безпеки.

Список використаної літератури:

1. Лікарські засоби Належна виробнича практика. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020. [Чинний від 2020-02-16]. - К.: Міністерство охорони здоров'я України, 2020. -338 с.

2. Технологія ліків промислового виробництва: Підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. / В.І. Чуєшов, Л.М. Хохлова, О.О. Ляпунова та інш.; за ред. В.І. Чуєшова – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. – 720 с.

3. Настанова. Лікарські засоби. Настанова з якості. Фармацевтична розробка. СТ-Н МОЗУ 42-3.1:2004 / ред. М. Ляпунов, В. Георгієвський, О.Безугла [та ін.] – Київ : МОЗ України, 2014. 16 с.

4. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ СТАДІЇ СТЕРИЛІЗУЮЧОЇ ФІЛЬТРАЦІЇ У ВИРОБНИЦТВІ БІОЛОГІЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Пшенична В. О., Поводзинський В.М.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, vnpovodzinski@ukr.net

Вступ. За своїм походженням лікарські засоби (далі ЛЗ) поділяються на хімічно синтезовані і ті, що отримані з біологічної сировини – біологічні лікарські засоби (біопрепарати) цей фактор визначає реалізацію контрольних процедур в критичних точках виробництва.

Мета. Оформлення документів для опису виробничого процесу, проведення валідаційних процедур потребує обґрунтованого вибору методів контролю. Вибір методів контролю обумовлюється чинним законодавством, специфікою виробництва та характеристикою обладнання та матеріалів. Знання цього комплексу інформації дозволяє отримати коректні результати.

Актуальність. Технології виробництва хімічно синтезованих ЛЗ і біопрепаратів принципово різні і це обумовлює вибір методів контролю і відповідно достовірність отриманих показників контролю. Для виробництва парентеральних форм ЛЗ концептуальне значення мають результати постадійної деконтамінації, серед яких найбільш важливою є стерилізуюча фільтрація (далі СФ) [1].

Матеріали та методи. Здійснений аналіз рекомендованих European medicines agency (EMA) та Державною Фармакопеєю України (далі ДФУ) методів контролю процесу стерилізуючої фільтрації та ефективності роботи стерилізуючих фільтрів. Проведене порівняння принципів запропонованих методик [1,2]. В основі оцінки способу деконтамінації покладене ступеневе зниження біологічного навантаження по стадіям технологічного процесу, що визначає ефективність стерилізуючої фільтрації.

Результати та обговорення. В технологіях парентеральних форм ЛЗ наявні два принципово різні технологічні прийоми виробництва: ті що припускають стерилізацію у кінцевому пакованні – фінішна стерилізація (terminal sterilization), і ті, що реалізуються в асептичних умовах при недопущенні потрапляння біологічних контамінантів. В даному випадку стерилізація базується не на знищенні, а видаленні життєздатної мікрофлори. (Рис.1.).

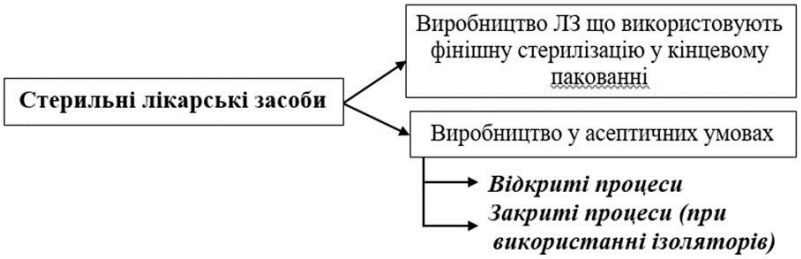


Рис. 1. Схема двох типів процесів виробництва стерильних ЛЗ.

Виробництва стерильних препаратів можливо реалізувати користуючись одним з трьох можливих технологічних рішень на стадії СФ і вибір коректного варіанту обумовлюється специфічними властивостями ЛЗ: - стерилізація у первинному пакованні при застосуванні термічної стерилізації; - коли специфіка

ЛЗ не дозволяє використовувати термічну стерилізацію потрібно створити асептичні умови виробництва використовуючи відкриті або закриті технологічні процеси; - проводити процеси фінішної стерилізації, забезпечивши мінімальне біонавантаження при застосуванні СФ [2,3].

Кваліфікація, вибір обладнання його обслуговування і взагалі технічне оформлення технологічного процесу СФ потребує *проведення двох видів контролю* при застосуванні мікробіологічних методів.

Визначення ефективності СФ. Для визначення ефективності СФ потрібна оцінка стерилізуючого ефекту. Для кількісної оцінки ефективності стерилізації використовується спеціальний показник – гарантований рівень стерильності (Sterility Assurance Level – SAL). Під час СФ найбільш суттєвою характеристикою тест-організму є його розмір. В якості такого організму був обраний *Brevundimonas (Pseudomonas) diminuta ATCC 1914,* якій має розмір ≈ 0,27 мкм [1]. Важливо обрати оптимальну кількість тест-організму для перевірки фільтру. Оптимальним є така кількість клітин, що утворить моношар, який вкриє усю поверхню фільтру - 10^7 організмів на 1 $см^2$ поверхні фільтра.

В результаті проведення бактеріального тесту отримують кількісне значення для стерилізуючого фільтра у логарифмах значення зменшення (LRV). LRV – це десятковий логарифм відношення числа мікроорганізмів, що потрапляють на фільтр на 1 $см^2$, до їх числа, що пройшли через фільтр. Фільтр вважається стерилізуючим якщо LRV≥7/$см^2$. Це означає, що при потраплянні на фільтр мікроорганізмів з концентрацією 10^7/1$см^2$ *Pseudomonas diminuta* жоден з мікроорганізмів не пройшов через фільтр.

Визначення біонавантаження. Методи контролю представлені двома методиками - метод прямого висівання та метод мембранної фільтрації, що наведені у ДФУ, Європейській Фармакопеї та інших джерелах, які базуються на встановленні кількості КУО у середовищі. В більшості випадків припускається біонавантаження в рідині, що підлягає стерилізації 10 КУО/100мл [3].

Перевірка фільтра на герметичність (цілісність). У нормативному документі [2] визначена необхідність перевірки герметичності фільтра – «Цілість стерилізуючого фільтра має бути перевірена *перед застосуванням і підтверджена відразу ж після використання відповідним методом*, таким як випробування на виникнення крапкових пухирців, дифузійного потоку або випробуванням під тиском». Перевірка фільтрів на цілісність базується на фізичних явищах, пов’язаних з процесом взаємодії змоченої рідини та мембрани фільтру [2].

Тест на точку бульбашки (виникнення «крапкових пухирців»). Метод базується на явищах що супроводжують поступове підвищення тиску у системі до утворення постійного повітряного потоку у вигляді бульбашок на поверхні мембрани. Той мінімальний тиск, при якому відбувається видалення води із пори фільтру, продавлювання бульбашки через пори пласкої гідрофільної мембрани та утворення постійного повітряного потоку і називається точкою бульбашки Рис. 2.

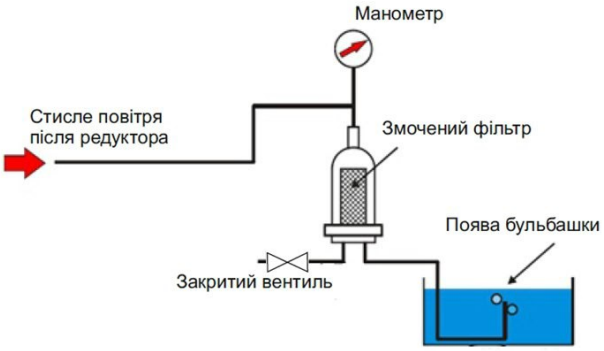


Рис. 2 . Принципова схема установки для перевірки герметичності мембрани фільтра стерилізуючої фільтрації методом точки бульбашки [2].

Метод дифузійного потоку (дифузійний тест) полягає у дифузії газу через змочену мембрану фільтра. При цьому стиснене повітря (або азот) розчиняється у рідині, що знаходиться у порах мембрани, та виходить на зворотній стороні фільтру. Під величиною дифузії розуміємо певний заданий об'єм газу, який потрібний для компенсації втрат газу у наслідок дифузії для підтримування постійного тиску. У пошкодженому фільтрі величина дифузії значно перевищує цей параметр для даного типу фільтрів. У якості змочувальної рідини для гідрофільних фільтрів застосовується вода, а для гідрофобних – органічні розчинники (етиловий та ізопропіловий спирти) або їх суміш з водою.

Випробуванням під тиском (тест втрати тиску) перевіряє герметичність фільтраційної системи за втратою тиску за певний проміжок часу.

Наразі сучасні фармацевтичні підприємства оснащені приладами компанії Sartorius, що можуть тестувати мембрани по цілій низці методів перевірки цілісності фільтра (Sartocheck®4 plus) – точка бульбашки, дифузійний тест; комбінований метод (визначення точки бульбашки та коефіцієнта дифузії); визначення падіння тиску; тест на проникнення води для гідрофобних мембран (water intrusion test); тест на швидкість потоку (water flow test); мультитест на дифузію (multipoint diffusion test) [4].

Висновки. Проведене наукове дослідження методів контролю виробничих процедур в критичних точках виробництва парентеральних біологічних препаратів. Представлений алгоритм оцінки ефективності деконтамінації та якісної оцінки матеріалів та обладнання. Дана інформація необхідна для оформлення технологічних інструкцій та проведення валідаційних процедур для оцінки ефективності роботи обладнання.

Список використаної літератури:

1. Guideline on the sterilisation of the medicinal product, active substance, excipient and primary container EMA/CHMP/CVMP/QWP/850374/2015, 6 March 2019, 25 p.
2. Лікарські засоби Належна виробнича практика. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020. [Чинний від 2020-02-16]. - К.: Міністерство охорони здоров'я України, 2020. -338 с.
3. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015.– Т.1. – 1128 с.
4. Перевірка фільтрів на цілісність (http://www.sartorius-sd.com.ua/index.php/ проверка-фильтров-на-целостность/sartocheck-4-plus.html).

ГІДРОДИНАМІКА І ТЕПЛООБМІН ПРИ ПОПЕРЕЧНОМУ ОБТІКАННІ ПУЧКА ГЕЛІКОЇДНИХ ТРУБ

Ружанський А.С., Костик С.І., Шибецький В.Ю.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, anrux@protonmail.com

Вступ. У конструкціях теплообмінних апаратів, виконаних з пучків труб, часто передбачається поперечне зовнішнє обтікання пучка теплоносієм. При цьому виникає досить складна картина течії потоку, яка суттєво впливає на ефективність конвективної тепловіддачі. Використання калориферів, трубчастих теплообмінників різних конструкцій, де реалізується даний механізм руху, набули широкого застосування в біотехнологічному, фармацевтичному та харчовому виробництві. Найчастіше вони застосовуються на ділянках виробничих ліній де реалізуються процеси, зневоднення, концентрування, випарювання, сушіння тощо [1-2]. Ефективність таких трубчастих теплообмінних елементів найчастіше залежить від розташування труб в пучку та особливості геометрії. Найбільш поширеними варіантами є використання гладких чи оребрених труб. Однак, ефективність перших обмежена низькою питомою поверхнею, а других складністю, а інколи не можливістю використання для рідких теплоносіїв через високий гідравлічний опір. Альтернативою можуть стати виті труби, які володіють кращими характеристиками. В попередній роботі [3] авторами була запропонована конструкція гелікоїдної теплообмінної трубки і підтверджена її ефективність перед круглими.

Матеріали і методи. В основу даного дослідження поставлена задача провести порівняльний аналіз пучка гладких труб і пучка гелікоїдних труб із однаковими вихідними фізичними параметрами. Дане дослідження було проведено з використанням сучасного програмного забезпечення ANSYS, з метою аналізу впливу геометрії трубки на ефективність тепловіддачі та підбору оптимальних параметрів.

Для вирішення цих задач використано модуль Fluid Flow CFX системи кінцево-елементного аналізу ANSYS. Для проведення дослідження було побудовано 3D-моделі круглих і гелікоїдних труб, які зібрані в пучки. Довжина кожної труби 1000мм, діаметр труб 21 мм та 15 мм, ширина та висота міжтрубного простору 100 мм на 400 мм для пучків з 31 труби, гелікоїдна труба навита (50 обертів на 1000 мм довжини труби).

Задані граничні умови для повітря всередині трубного пучка (Рис.1, *a*):

- повітря входить через нижню область зі швидкістю 0,5 м/с, гранична умова «Air20_Inlet»;
- вихід повітря розміщений з протилежної сторони об’єму;
- «Air20_Outlet», тиск на виході з об’єму 1 атм;
- для бічних поверхонь встановлено тип границі «Air20_Symmetry»;
- внутрішня частина має граничну умову з температурою 20 °C «Air20_Wall»;

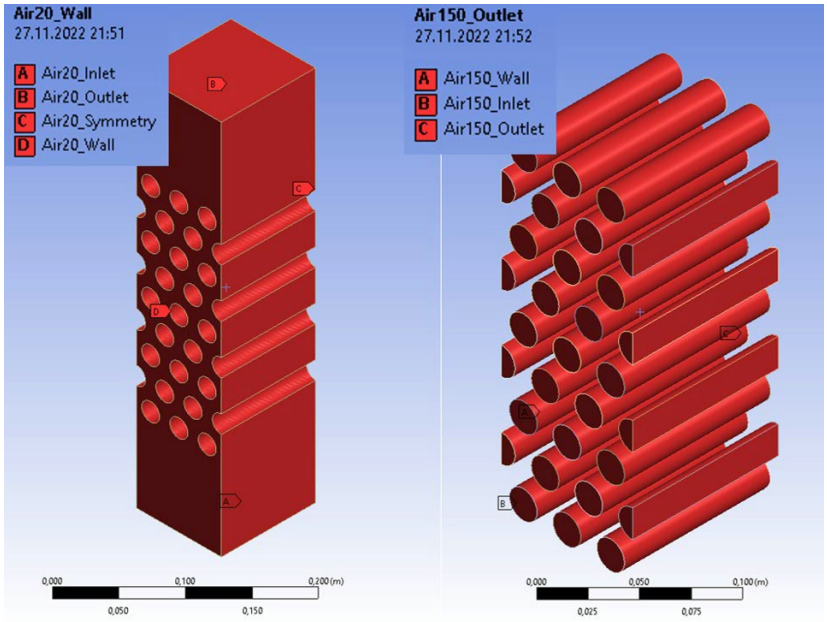
Аналогічно задані граничні умови для повітря ззовні трубного пучка (Рис.1, b):

•повітря входить через фронтальну область зі швидкістю 1 м/с, гранична умова «Air150_Inlet»;

•вихід повітря розміщений з протилежної сторони об'єму;

•«Air150_Outlet», тиск на виході з об'єму 1 атм;

•внутрішня частина має граничну умову з температурою 150 °С «Air150_Wall».



a *b*

Рис. 1. Граничні умови: *a* – для теплоносія середині трубного пучка, *b* – для теплоносія зовні трубного пучка.

Параметри розрахункової сітки:

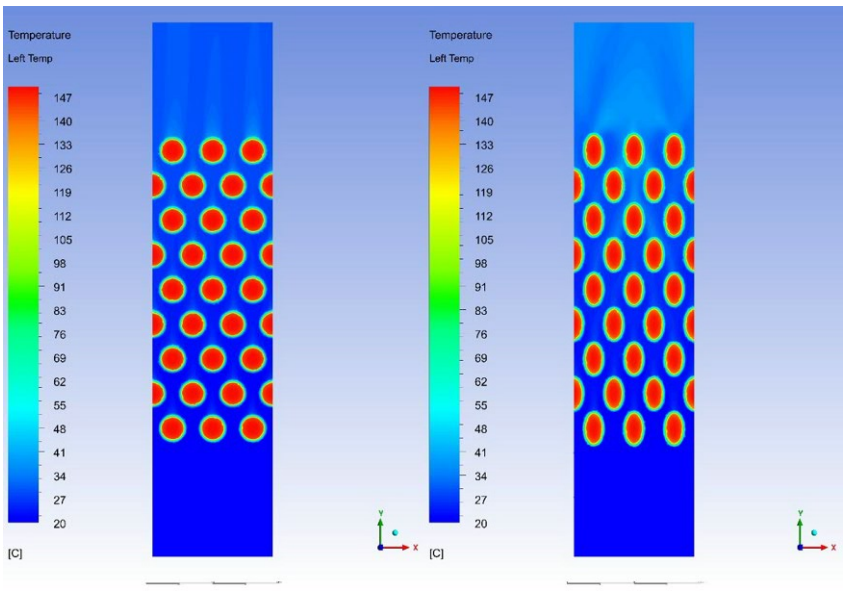
•сітка складається з тетраедрів (функція Method control: Tetrahedrons);

•при побудові сітки розмір елементу 0,002 м;

•середня кількість вузлів для однієї труби 200000-9000000;

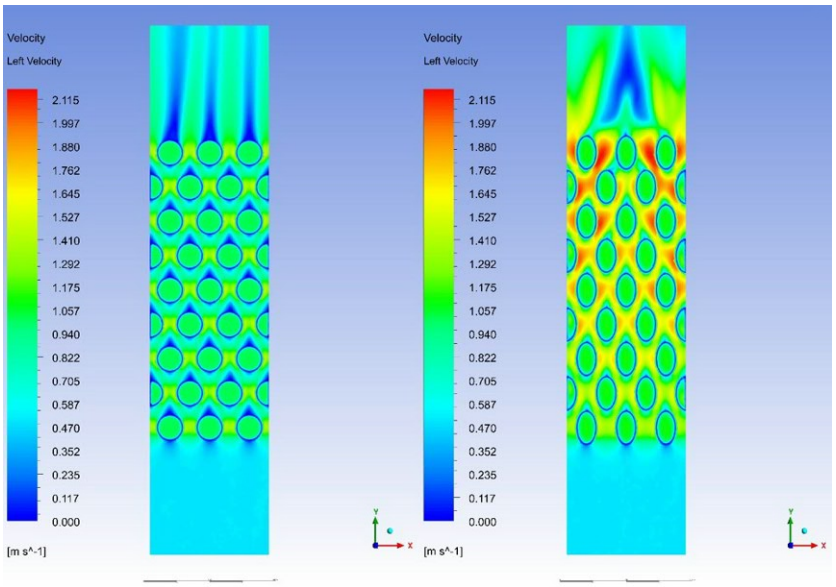
•середня кількість елементів 120000-6000000.

Результати і обговорення. В результаті проведеного моделювання для обох пучків були отримані епюри швидкостей, тисків, температурних полів, кінетичної енергії турбулентності та інших конвективних параметрів. Це дозволило якісно і кількісно оцінити ефективність використання пучків гелікоїдних труб в порівнянні з пучком гладких круглих труб. Для прикладу наводимо епюри температур (Рис. 2.), швидкостей теплоносії (Рис. 3.) та коефіцієнтів тепловіддачі (Рис.4.), аналіз яких дозволяє оцінити ефективність конвективного теплообміну. Усереднене значення температур повітря після проходження пучка круглих гладких труб становить – 29,9 °С, а після гелікоїдних – 35,2 °С. Розподіл середніх швидкостей в каналах міжтрубного простору круглих гладких труб – 0,635 м/с, локально досягаючи значень – 1,6 м/с, а гелікоїдних труб – 0,773 м/с, локально – 2,1 м/с.



a *b*

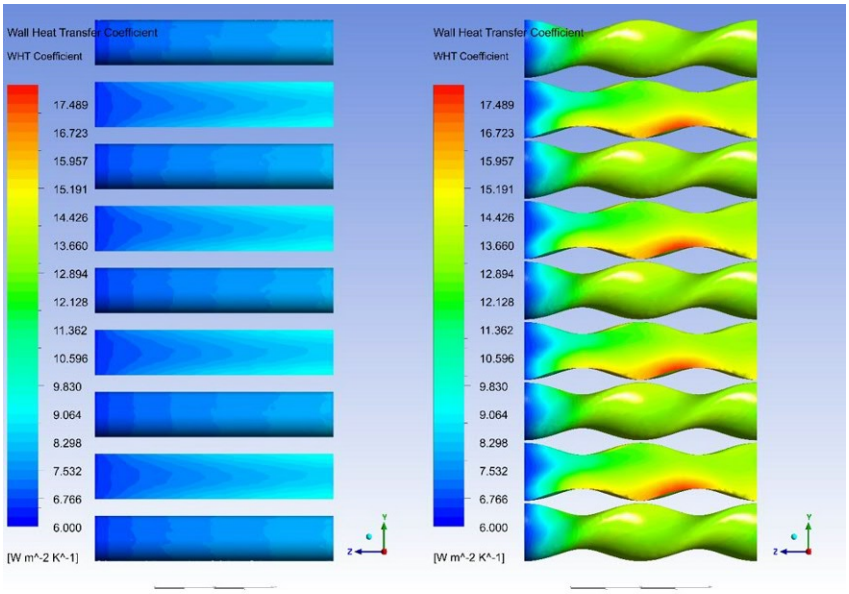
Рис. 2. Епюра температур: *a* – гладкий трубний пучок, *b* – гелікоїдний трубний пучок.



a *b*

Рис. 3. Епюра швидкостей: *a* – гладкий трубний пучок, *b* – гелікоїдний трубний пучок.

У передній частині спостерігається плавне обтікання з утворенням та наростанням товщини пограничного шару. У кормовій частині відбувається відрив пограничного шару від поверхні з утворенням низки вихорів, які утворюють за трубами вихрову смугу. Локальне зростання швидкості і турбулізація потоку позитивно впливає на коефіцієнти тепловіддачі усереднені значення яких для круглих гладких труб становлять – 12,4 Вт/м^2·К, в свою чергу для гелікоїдних труб – 16,75 Вт/м^2·К.



a *b*

Рис. 4. Епюра розподілу коефіцієнтів тепловіддачі по поверхні труб: *a* – гладкий трубний пучок, *b* – гелікоїдний трубний пучок.

Висновки. Порівняльний аналіз результатів моделювання дозволяє говорити про можливість використання розроблених гелікоїдних витих труб в класичному теплообмінному обладнанні. Середня енергоефективність такого гелікоїдного пучка на 37% вища за класичні гладкі труби круглого перерізу.

Список використаної літератури:

1. Talib, R.N., Yasin, N.J., Nasser, M.A., 2019. The effect of external helical ribs tube on the heat transfer and pressure drop performance for multi - tube heat exchanger. IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 518, 032015.

2. Pethkool, S., Eiamsa-ard, S., Kwankaomeng, S., Promvonge, P., 2011. Turbulent heat transfer enhancement in a heat exchanger using helically corrugated tube. International Communications in Heat and Mass Transfer 38, 340–347.

3. RuzhanskyiA., Kostyk S., Shybetskyi V. Simulation of fluid motion in a tubesof differentcross-sections «Біотехнологія XXI століття»: матеріали XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції (Київ, 3 червня 2022) [Електронне видання] / Міністерство освіти і науки України, КПІ ім. Ігоря Сікорського, Національна академія наук України, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії – Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. – 190-191.

4. Kostyk, S.I., Shybetskyi, V.Yu., Plashykhin, S.V., Bykoriz, Y.O. Determination of heat transfer efficiency in the conditions of forced convection from pipes with special ribs. TTPE. 2021. 43. P. 21–29.

5. Korobiichuk, I., Shybetska, N., Shybetskyi, V., Kostyk, S. (2021). Modeling of Systems of Automated Auxiliary Processes in Pharmaceutical Industry. In: Szewczyk, R., Zieliński, C., Kaliczyńska, M. (eds) Automation 2021: Recent Achievements in Automation, Robotics and Measurement Techniques. AUTOMATION 2021. Advances in Intelligent Systems and Computing, vol 1390. Springer, Cham.

6. Korobiichuk, I.; Mel'nick, V.; Shybetskyi, V.; Kostyk, S.; Kalinina, M. Optimization of Heat Exchange Plate Geometry by Modeling Physical Processes Using CAD. *Energies* 2022, *15*, 1430.

МАГНІТНО-РЕЗОНАНСНА ТОМОГРАФІЯ ПРИ ВИЯВЛЕННІ ТА ДОСЛІДЖЕННІ ГЕПАТОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ДИСТРОФІЇ

Сапіташ О.В., Гришкевич К.В., Кузь О.П.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, oleksandra7683@gmail.com

Вступ. Гепатоцеребральна дистрофія – це спадкове захворювання, при якому мідь накопичується у тканинах. При хворобі Вільсона порушуються два основні процеси обміну міді в печінці – виведення міді з жовчю та біосинтез головного мідь-зв'язуючого білка – церулоплазміну. В результаті в крові підвищується вміст незв'язаної міді, що веде до збільшення концентрації міді в різних органах, переважно в головному мозку, нирках, печінці та рогівці, і їх токсичному ураженню.

Хвороба відноситься до аутосомно-рецесивного типу успадкування, тобто для прояву мутації мутантний алель, розташований в аутосомі, має бути успадкований від обох батьків.

Найбільш поширеними та відомими клінічними проявами цієї хвороби є:

1. Черевна форма — тяжке ураження печінки, що призводить до смерті ще до появи симптомів з боку нервової системи; хворіють діти. Її тривалість коливається від декількох місяців до 3—5 років.

2. Рання форма (ригідно-аритмогіперкінетична) відрізняється швидким перебігом; починається навіть у дитячому віці. У клінічній картині переважає рівномірне підвищення тонусу м'язів по пластичному типу (кінцівки при їх згинанні та розгинанні застигають у наданому їм положенні), що призводить до обмеження рухливості в суглобі і сповільнення рухів. Характерними є порушення мовлення, розлад акту ковтання, судомний сміх і плач, психічні розлади і помірне пониження інтелекту. Захворювання триває 2—3 роки, закінчується летально.

3. Тремтливо-ригідна форма зустрічається частіше решти; починається в юнацькому віці, перебігає повільніше, іноді з ремісіями і раптовими погіршеннями, що супроводжуються стабільно підвищеною температурою (37˚-38˚). Характеризується одночасним розвитком важкого ритмічного тремтіння (2—8 тремтінь на секунду), яке різко посилюється при незмінній напруженості м'язів, рухах чи хвилюваннях, а також неможливістю розігнути кінцівку. Спостерігаються також розлад акту ковтання і порушення звуковимови та мовлення. Середня тривалість життя становить близько шести років.

4. Тремтлива форма починається у віці 20—30 років, перебігає досить повільно (10—15 років і довше); тремтіння різко переважає; неможливість розгинання та згинання голови і кінцівок із зігнутого положення проявляється лише наприкінці хвороби, а інколи спостерігають гіпертонію м'язів (збільшення напруження м'язів у стані спокою); відмічають ослаблення, або відсутність міміки обличчя, повільну монотонну мову, важкі зміни психіки, часто спостерігають сильні та короткочасні емоційні спалахи; можливі епілептичні припадки.

5. Екстрапірамідно-кіркова форма зустрічається рідше решти форм. Типові для хвороби порушення надалі ускладнюються мозковими розладами,

епілептичними припадками і тяжким слабоумством (спостерігають обширні розм'якшення у корі великих мозкових півкуль). Триває 6—8 років, закінчується смертю [1,3].

Незважаючи на досягнення останніх років у впровадженні в медичну практику нових методів діагностики та лікарських препаратів, проблеми виявлення та лікування спадкових хвороб залишаються актуальними питаннями сьогодення.

Матеріали та методи. Патології мозку, які не завжди реєструються іншими методами діагностики, чітко візуалізуються за допомогою методу магнітно-резонансної томографії.

МРТ відноситься до томографічного методу дослідження внутрішніх органів і тканин з використанням фізичного явища ядерно-магнітного резонансу (ЯМР)

У лабораторії було проведено дослід із використанням методу МРТ для пошуку, визначення та подальшого дослідження особливостей магнітно-резонансної візуалізації гепатоцеребральної дистрофії (ГЦД).

В роботі застосовувався апарат Philips Achieva 1.5 тесла, канальний, (виробництво Нідерланди). Дана машина комбінує в собі все необхідне для отримання зображення головного мозку (якість зображення - порівняно висока). Оснащений 8-канальною градієнтною системою «Pulsar» з максимальною амплітудою коливання 33 мТл/м зі швидкістю наростання 80 мТл/м/мс. Також наявний повністю цифровий спектрометр «FreeWave», що забезпечує найвищий рівень можливостей при кількісному оцінюванні розподілу енергії у спектрі [2].

Комплексне томографічне дослідження пацієнтів, які мали в анамнезі захворювання гепатоцеребральної дистрофії з накопиченням міді у мозку, здійснювалося у період ранніх стадій при можливості подальшого лікування.

Поміщаємо пацієнта у «тунель» апарату, де він повинен перебувати 20-30 хв. (рідше довше) для отримання чіткого зображення. Діаметр «труби» складає 70-80 см., відкрита з обох сторін.

За цей час під дією сильного магнітного поля (більшого в декілька разів за магнітне поле Землі), ядра гідрогену в нашому організмі, які є спінами, являють собою маленькі електроструми, що поводять себе, як електромагніти взаємодіють з зовнішнім магнітним полем і набувають напрямку. При накладанні зовнішнього магнітного поля більшість ядер займають положення з мінімальною енергією (повертаються вздовж поля), але якщо опромінити ядра електромагнітним імпульсом певної частоти то він поглинається, вони повертаються на 180° і займають положення з максимальною енергією (повертаються проти поля). Через певний час релаксують в попереднє положення, і надлишок опромінюють у вигляді електромагнітної хвилі, що приймається томографомдля створення чіткого зображення.

Зазвичай, для магнітно-резонансної томографії використовують магнітні поля з частотою від 1 до 3 тесла, що відповідає частотам радіочастотного діапазону від 42 до 128 МГц. Ці частоти відповідають довжинам хвиль близько від 7 до 2 метрів відповідно. Отже знімки та діагностика усіх пацієнтів під час нашого досліду здійснюється в діапазоні довжин хвиль близько 5м [2].

Результати та обговорення. Розглядаємо отримані, завдяки томографу, зображення головного мозку пацієнтів з патологічними проявами неврологічних симптомів, що дають нам змогу побачити підвищену кількість базальних ядер (нейтронні вузли розташовані у центрі білої речовини півкуль головного мозку) за час спін спінової релаксації (час перерозподілу енергії в самій спіновій системі).

У сірій рідині головного мозку міститься багато ядер гідрогену, щодозволяють нам побачити чіткі зображення на пристрої, без променевого навантаження:

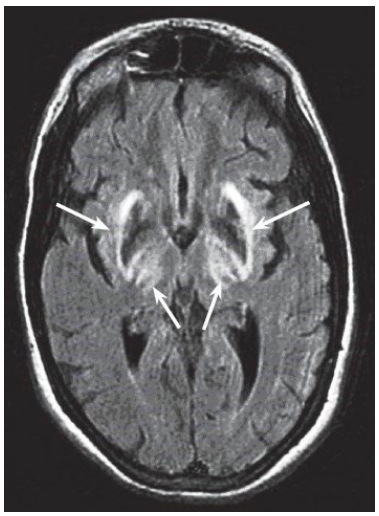


Рис.1. МРТ головного мозку хворого з діагнозом хвороба «Вільсона-Коновалова».

Зниження МП-сигналу в режимі «Flair» від сочевице подібних ядер з двох сторін і зі збільшенням сигналу по контуру цих осередків (стрілки):

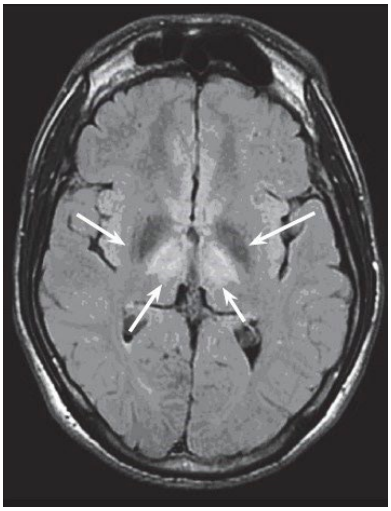


Рис.2. МРТ головного мозку хворого з діагнозом хвороба «Вільсона-Коновалова».

В симетричних відділах зорових горбів з двох сторін візуалізуються зони патологічного МР-сигналу неправильної форми, з нечіткими, нерівними контурами і неоднорідної структури (стрілки):

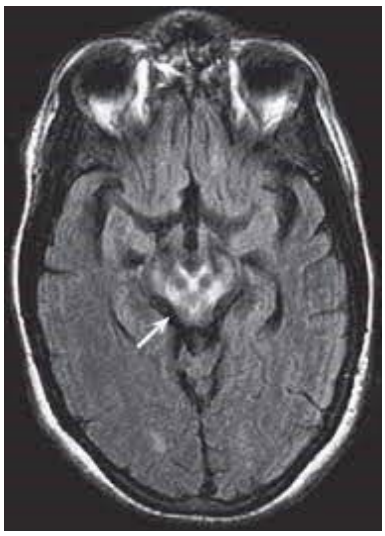


Рис.3. МРТ головного мозку хворого з діагнозом хвороба «Вільсона-Коновалова».

Відмічається нерівномірне підвищення МР-сигналу в режимі «Flair» від середнього мозку по типу «обличчя великої панди» (стрілка) [4].

Висновки. Під час виконання даної роботи та опрацювання великої кількості матеріалу, ми дійшли до висновку, що серед існуючих діагностичних методів дослідження, які використовують для своєчасного виявлення та лікування гепатоцеребральної дистрофії, магнітно-резонансна томографія займає одне із найважливіших місць, як нешкідливий, неінвазивний, надійний та достовірний метод діагностики захворювання генетичних хвороб.

При дослідженні хворих пацієнтів було знайдено та показано три типи МРТ з діагнозом: хвороба «Вільсона-Коновалова» [4].

Як висновок можна зробити припущення про те, що завдяки розвитку науки та техніки ми зможемо удосконалювати томографи для подальшого визначення та вивчення генетичних хвороб методом магнітно-резонансної томографії.

Список використаної літератури:

1. Хвороба Вільсона. *Вікіпедія.* URL: https://uk.wikipedia.org/wiki.

2. МРТ, КТ та рентген. Що потрібно знати про сучасні види променевої діагностики. URL: https://uniqa.ua/blog/mrt-kt-i-rentgen-chto-nuzhno-znat-o-sovremennykh-vidakh-luchevoy-diagnostik/.

3. Гепато-церебральна дистрофія. *Клініка медичного університету. Центр реконструктивної і відновлювальної медицини ОНМедУ.* URL: http://www.medclinic.od.ua/site.php/neuro_nasl_gcd.php.

4. Хвороба Вільсона-Коновалова. *Empedium - портал для лікарів,* URL: https://empendium.com/ua/chapter/B27.II.7.8.

5. URL: http://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream.

ПРОТОТИП КОНСТРУКЦІЇ БІОРЕКТОРА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ КЛІТИННИХ КУЛЬТУР

Семенюк С.М., Шибецький В.Ю.
КПІ ім. Ігоря Сікорського, semmeniuk@gmail.com

Вступ. Фармацевтична біотехнологія – новітня та перспективна галузь, що набула стрімкого розвитку протягом останніх десятиліть. Топ найбільш розвинених фармацевтичних компаній розглядають дану галузь, як одну з найважливіших стратегічних напрямків свого розвитку в індустрії.

Біотехнологічні препарати становлять значну частку обсягу світового продажу лікарських засобів. Відповідно до аналітики «Evaluate Pharma», прогнозується значний ріст на фармацевтичному ринку з 30% у 2020 р. до 37% до 2026 р., а в топ 100 препаратів, що найбільше продаються, до 50% продажів буде забезпечено саме біотехнологічними препаратами [1].

Шлях від розробки до промислового випуску препаратів дуже трудомісткий, дорогий та тривалий. Зазвичай активні фармацевтичні інгредієнти (АФІ) біологічного походження розробляються в кілька етапів, які включають: розуміння принципів, що лежать в основі здоров'я та хвороб; фундаментальні молекулярні механізми, що регулюють функцію споріднених біомолекул; синтез і очищення молекул; визначення терміну придатності, стабільності, токсичності та імуногенності продукту; системи доставки ліків; патентування; та клінічні випробування [2].

Виробництво АФІ біологічного походження передбачає використання біологічних агентів (мікроорганізми, клітини рослин, тварин, людей тощо) для отримання цільових продуктів (молекули, білки, віруси та ін.). Основною та критичною, з точки зору якості та кількості отримуваного АФІ, являється стадія біологічного синтезу, яка здійснюється за допомогою спеціального обладнання – біореакторів [3-4].

Матеріали та методи. На відміну від мікроорганізмів, клітини тварин та людей мають більші розміри, тонку цитоплазматичну стінку, тому вони мають більшу чутливість до напружень зсуву рідини і пошкоджуються при контакті з бульбашками повітря. Більшість клітин не розвиваються в суспензійному виді і являються поверхневозалежними, тобто, такими, що потребують певної поверхні для розвитку.

Основна функція біореактору полягає в створенні та підтриманні сприятливих умов для росту, розвитку клітин та утворення цільового продукту.

Тому залишається актуальним розробка та досліджень нових типів біореакторів, що дозволять проводити ефективне культивування клітинних культур від етапу лабораторних досліджень до промислового синтезу АФІ.

Для забезпечення оптимальних параметрів процесу культивування використовується метод аналізу потреб клітин для отримання максимального виходу цільових продуктів.

Результати та обговорення. Було розроблено конструкцію апарату для поверхневого (2D) культивування клітин Рис 1. Біореактор складається з циліндричного корпусу 1, кришки 2, що містить патрубок 3 подачі поживного

середовища, патрубок 4 подачі посівного матеріалу, повітровідвідник 5, гільзу 6 датчика розчиненого кисню та гільзу 7 датчика pH метру. У кришці 2 розміщені патрубок 3, патрубок 4, повітровідвідник 5, гільза 6 і гільза 7. Днище 8 апарату має патрубок 9 для циркуляції поживного середовища через перистальтичний насос 10.

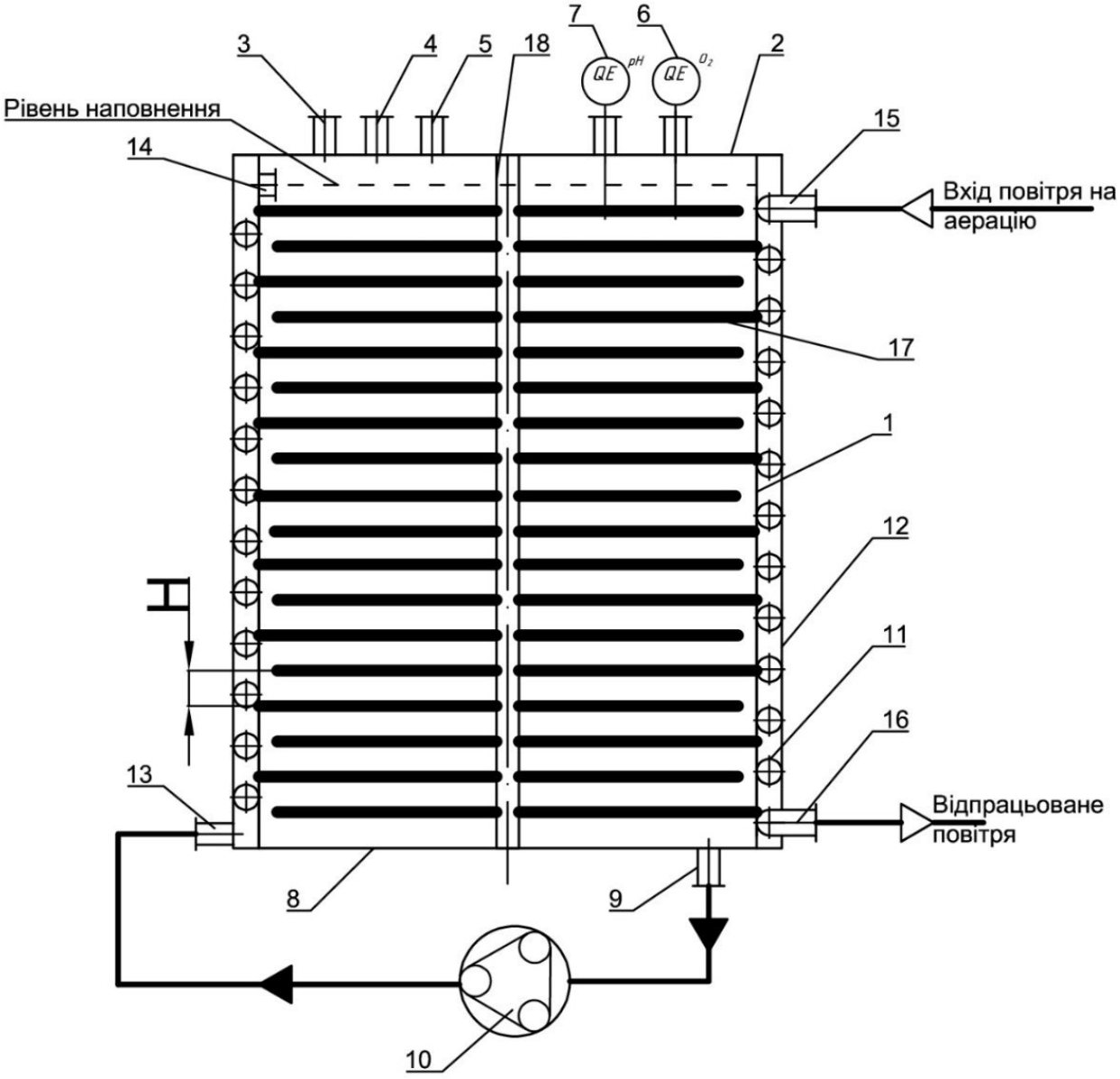


Рис. 1. Принципова схема розробленої конструкції біореактора

Аераційний пристрій являє сорочку апарату 12 в якому поміщена, трубка 11 з гідрофобного полімеру, у вигляді змійовика, що має патрубок 13 для подачі поживного середовища на аерацію, патрубок 14 – повернення поживного середовища в апарат, патрубок 15 – подача аераційного повітря та патрубок 16 для відводу відпрацьованого повітря.

Насадки, на поверхні яких закріплюються та розвиваються біологічні агенти 17 розташовані на валу 18 із певним кроком (H). Таке розташування дозволяє забезпечувати направлений потік поживного середовища, омиваючи всю поверхню кожної пластини.

Даний біореактор відноситься до категорії Single Use Bioreactor – тобто його постачають вже у зібраному вигляді, стерильним та готовим до використання. Після завершення процесу апарат утилізують.

Біореактор працює наступним чином. Готовий до використання апарат, розташовують на підставці та підключають до комунікацій. Через патрубок 3 подають стерильне поживне середовище до вказаного рівня наповнення. Потім, через патрубок 4 вносять посівний матеріал. Під час наповнення апарату, штуцер повітровідвідника 5 повинен бути відкритий, щоб уникнути зростання тиску всередині біореактора. Пластини, на яких відбувається прикріплення та ріст біологічних агентів 17 розташовані на валу 18 з утворенням каналів, по яким поживне середовище циркулює низхідним потоком. Після внесення поживного середовища та посівного матеріалу вмикають подачу аераційного повітря через патрубок 15 та відведення через патрубок 16. Після заповнення та часткової адгезії клітин, вмикають перистальтичний насос 10 для циркуляції поживного середовища з патрубка 9, що розташований на днищі 8, та повернення всередину апарату через патрубок 14. Рухаючись по каналах, що утворені полімерною гідрофобною селективною до кисню трубкою 11 та корпусом апарату 1, поживне середовище насичується киснем та повертається у верхню частину апарату. На кришці 2 розташовані датчики розчиненого кисню 6 та датчик pH 7.

Висновки. Біореактор має модульну конструкцію, що дозволяє регулювати кількість пластин для прикріплення та росту клітин, і, як наслідок, регулювання продуктивності біорекатора.

Конфігурація та розміщення пластин забезпечують рівномірний та однонаправлений потік поживного середовища, без утворення зон із високими напруженнями зсуву.

Зовнішній мембранний аераційний пристрій забезпечує безбульбашкову аерацію поживного середовища, що в свою чергу унеможливлює пошкодження клітин при контакті із бульбашками повітря або утворення піни в апараті під час культивування.

Список використаної літератури:

1. Evaluate Pharma® Evaluate Pharma World Preview 2021, Outlook to 2026, July 2021.
2. Mallela, K. Pharmaceutical biotechnology - concepts and applications: Walsh Gary Wiley, Chichester, West Sussex, UK. Hum Genomics. 2010. 4. 218. https://doi.org/10.1186/1479-7364-4-3-218
3. Eibl, R., Eibl, D., Pörtner, R., Catapano, G., Czermak, P. Cell and tissue reaction engineering. Springer. 2009. 363. doi: http://doi.org/10.1007/978-3-540-68182-3.
4. Korobiichuk, I., Semeniuk, S., Shybetskyi, V., Kostyk, S., Povodzinsky, V. (2022). Development of a Bioreactor Design for Cultivation of Cell Cultures. In: Szewczyk, R., Zieliński, C., Kaliczyńska, M. (eds) Automation 2022: New Solutions and Technologies for Automation, Robotics and Measurement Techniques. AUTOMATION 2022. Advances in Intelligent Systems and Computing, vol 1427. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-03502-9_32 .

КРИТЕРІЇ ВИБОРУ РОЗПИЛЮВАЛЬНИХ СУШАРОК ДЛЯ ТЕРМОПЛАСТИЧНИХ ТА АДГЕЗІЙНИХ МАТЕРІАІВ

Турчина Т.Я., Макаренко А.А., Ткаченко О.В., Костянець Л.О.
Інститут технічної теплофізики НАН України, tbds_ittf@ukr.net

Вступ. Більшість об'єктів розпилювального сушіння з рослинної і плодової сировини (колоїдні розчини, гетерогенні системи) належать до так званих «складно висушуваних» матеріалів, для яких характерним є висока термопластичність і адгезійність, а в стані порошку – гігроскопічність. Адгезійні відкладення таких порошків на стінках камери призводять до частих зупинок енергоємного сушильного обладнання, що негативно впливає на собівартість продукції та рентабельність виробництва [1, 2].

Підвищення ефективності роботи розпилювальних сушарок для термопластичних матеріалів вимагає вдосконалення їх конструкцій і застосування ефективних засобів модифікації властивостей матеріалів як об'єктів розпилювального сушіння, розуміння кінетики їх сушіння та методів інтенсифікації тепловологопереносу для управління властивостями порошку. Тому при виборі конструкції розпилювальної сушарки для даного класу продуктів, зокрема, її камери, доцільно виходити з критеріїв одержання високоякісного порошку достатньої сипкості для уникнення адгезійних відкладень і збільшення виходу.

Мета роботи полягала у проведенні аналітичних досліджень для визначення основних конструктивних особливостей розпилювальних сушарок як критеріїв вибору раціонального типорозміру і конструкції установки для термопластичних та адгезійних матеріалів.

Матеріали та методи. Аналітичні дослідження проводились за даними літературних та патентних джерел різних країн, де висвітлюються проблеми адгезійних відкладень в камерах розпилювальних сушарок і наведені сучасні конструктивні підходи для їх вирішення.

Результати та обговорення. Важливим аспектом у виборі розпилювальної сушарки для одержання порошкових продуктів і добавок з рослинної і плодової сировини є наявність таких конструктивних рішень, які сприяють уникненню складнощів при сушінні рідинних систем з підвищеними термопластичними та гігроскопічними властивостями висушених порошків. Такі об'єкти розпилювального сушіння містять велику кількість вуглеводів, органічних кислот, інших речовин з низьким порогом термопластичності, що обумовлює їх схильність до налипання до стінок сушильної камери у гарячому стані [2-4].

Навіть нестабільність показників, що характеризують кислотність (pH), харчових середовищ (соки, солодові екстракти та ін.) негативно впливає на міцність структури часток в камері сушарки і підвищує їх адгезійну спроможність[2, 4].

Полідисперсність мікрочастинок нерозчинних фракцій рідких гетерогенних систем (пюре, пасти) призводить до неоднорідності дисперсного складу крапель у факелі розпилу і, як наслідок, до нерівномірності їх висушування і налипання на стінках сушильної камери частинок більшого розміру та вологовмісту [1-4].

За даними дослідників різних країн [1-3, 5-8] сушіння продуктів з низькою температурою розм′якшення, а отже з підвищеними адгезійними властивостями, або вираженими гігроскопічними властивостями отриманих порошків має здійснюватися у спеціальних розпилювальних сушильних установках.

В розпилювальних сушарках, спеціально призначених для даного класу матеріалів, передбачаються наступні заходи та вузли [2-8]: • термостатування стінок камери або певних її зон, циклонів; • максимальне скорочення повітроводів між камерою та циклонами; • управління аеродинамічними умовами у факелі розпилу для локалізації ефекту термостатування лише у конусній частині камери;

• «повітряна мітла» - труба, закріплена в основі камери, з соплами для подачі при її обертанні охолодженого повітря для змітання порошку зі стінок камери; • рама, вмонтована в основі усіченої конусної (переважно термостатованої) частини камери, яка при обертанні сприяє видаленню порошку зі стінок камери; • скребок, що при обертанні вздовж підлоги усіченого конусу змітає/всмоктує осівший порошок і спрямовує його до вивантажного отвору; • охолодження порошку поза межами камери за допомогою охолодженого і осушеного до 40% відносної вологості повітря в апаратах стрічкового типу або зрідженого шару (інстантайзер) і т. д., що сприяє зміцненню структури частинок.

Таким чином, при поступовому охолодженні порошку в режимі перемішування в нижній частині камери, потім поза її межами забезпечується покращення його структурно-механічних характеристик, зокрема сипкості, що сприяє підвищенню виходу, покращенню його якості і збільшенню терміну зберігання до 1 року [1, 4].

Висновки. Проведений аналіз показав, що вибір конструкції розпилювальної сушарки доцільно здійснювати за критеріями максимального сприяння ефективному висушуванню частинок порошку і уникнення адгезійних явищ в камері за умов покращення їх температурно-вологісного стану і зміцння структури.

Список використаної літератури:

1. Dolinsky, A., Maletskaya K., & Snezhkin Y. (2000). Fruit and vegetable powders production technology on the bases of spray and convective drying methods. *Drying Technology.* No. 3 Vol. 18.P.747 – 758. https://doi.org/10.1080/07373930008917735
2. Долинский А. А., Малецкая К. Д. (2011) Распылительная сушка: в 2-х т. Т. 1. Теплофизические основы. Методы интенсификации и энергосбережения. Киев: Академперид, 376с.
3. Mujumdar, A.S. (Ed.). (2006). *Handbook of Industrial Drying (3rd ed.).* CRC Press.
4. Малецька К.Д., Турчина Т.Я., Жукотський Е.К., Авдєєва Л.Ю., Декуша Г.В., Макаренко А.А. (2021) Теплотехнології нових порошкових продуктів з натуральної рослинної сировини. *Наукові праці НУХТ, Т.26, №6, Київ: НУХТ. С.94-99.*
5. Masters K. (1985) Spray Drying. Handbook, 4th edition. London, New York: John Willy and Sons, 696 p.
6. Masters K. (1991) Jmpact of spray dryer design on powder properties. Drying′91. Amsterdam: Elsevier Sci.Publ. P. 12—31.
7. Masters R. (2003) Reflections on spray drying achievements and challenges//Proc. of 2nd Nordic Drying Conf. Copenhagen, Denmark. P. 8-17.
8. Filkowa I., Mujumdar A.S. (1994) Industrial Spray Drying Systems. Advances in Drying 4. P. 263-307.

ВИКОРИСТАННЯ БЕЗКЛІТИННОГО ДРІЖДЖОВОГО ЕКСТРАКТУ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* М437 ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

Марченко В.В., Скроцька О.І.
Національний університет харчових технологій, potapenko.lera@ukr.net

Вступ. Серед різних методів синтезу наночастинок біологічний має ряд переваг, оскільки не потребує використання шкідливих та токсичних хімікатів та високого енергоспоживання. При використанні даного методу науковці для синтезу наночастинок використовують біологічні системи, такі як рослини або частини рослин, бактерії, гриби, водорості, тканини або клітини тварин, білки, нуклеїнові кислоти, вітаміни. Існують різні типи металевих наночастинок, до яких належать наночастинки заліза, золота, срібла, титану, церію, платини, талію і так далі. Наночастинки срібла (AgNPs) є одними з широко досліджуваних металевих наночастинок в різних наукових напрямах завдяки їх характерним перспективним фізико-хімічним та біологічним властивостям, а також їх величезному потенціалу застосування в багатьох сферах [1].

Матеріали та методи. AgNPs отримували при використанні безклітинного водного екстракту *Saccharomyces cerevisiae* М437. Дріжджі культивували 24 та 48 год, після чого відділяли клітини та промивали їх дистильованою водою. Далі дріжджі витримували 72 год у дистильованій воді. Після чого клітини відділяли і отриманий супернатант використовували для подальших досліджень як безклітинний екстракт. Факт синтезу AgNPs підтверджували спектральним аналізом в УФ-видимій області за допомогою спектрофотометра Thermo Spectronic UV300 у діапазоні довжин хвиль від 350 до 650 нм.

Результати та обговорення. В попередніх дослідженнях для отримання AgNPs ми використовували поживне середовище YPD для культивування *S. cerevisiae* М437 [2]. Оскільки нині є актуальним вдосконалення способів отримання наночастинок за допомогою біологічних об’єктів є потреба у дослідженні можливості використання іншого поживного середовища з цією метою. Так, середовище Рідера є набагато дешевшим, порівняно з середовищем YPD, тому ми дослідили можливість використання даного середовища з метою отримання AgNPs.

Для синтезу AgNPs до безклітинного водного екстракту *S. cerevisiae* М437 вносили розчин нітрату срібла до кінцевої концентрації 1 мМ. Далі досліджувані зразки витримували упродовж 10 діб при 30 °С в статичних умовах.

Після додавання 1 мМ розчину нітрату срібла до досліджуваних зразків безклітинного екстракту дріжджів візуально спостерігали зміна кольору реакційної суміші з прозорого на світло-жовтий. З часом зразки стали темно-коричневого кольору. Тобто поверхневий плазмонний резонанс наночастинок срібла в ході реакції призводить до зміни кольору розчину на темно-коричневий, що свідчить про відновлення іонів срібла Ag^+ до AgNPs [3, 4].

Також за допомогою використання спектрального аналізу в УФ-видимій області був показаний факт синтезу AgNPs у діапазоні довжин хвиль від 350 до

650 нм (рис. 1). При цьому спостерігали появу піку поглинання між 400 і 450 нм, що також підтверджує синтез наночастинок срібла [5].

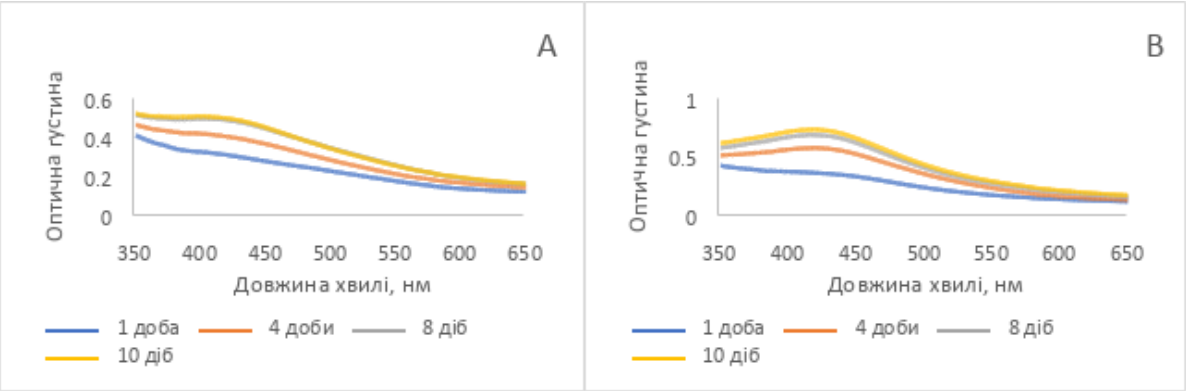


Рис. 1. Спектри поглинання біосинтезованих AgNPs з використанням безклітинного дріжджового екстракту (А – культивування дріжджів 24 год, В – культивування дріжджів 48 год)

Усі зразки безклітинного водного екстракту, отримані з використанням культуральної рідини після 24 та 48 годин культивування мали виражений пік поглинання близько 420 нм. Є дослідження, де за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* були отримані біогенні AgNPs з середнім розміром 20,1 нм, при цьому виражений пік поглинання реєстрували також при 420 нм [6]. Крім того, подібний пік поверхневого плазмонного резонансу зустрічається при біосинтезі наночастинок срібла за допомогою дріжджів *Yarrowia lipolytica*, розміри яких становили від 2 до 100 нм [5].

Висновки. Підтверджено можливість використання синтетичного поживного середовища Рідера для культивування дріжджів *S. cerevisiae* M437 з метою подальшого використання безклітинного дріжджового екстракту для біосинтезу наночастинок срібла. В подальшому нами буде досліджено біосинтез AgNPs при різних температурних режимах, pH та інших параметрах біосинтезу наночастинок.

Список використаної літератури:

1. Sofi M. A., Sunitha S., Sofi M. A., et al. An overview of antimicrobial and anticancer potential of silver nanoparticles. Journal of King Saud University-Science. 2022, 34(2): 101791.

2. Skrotska, O., Kharchenko, Y., Laziuka, Y., Marynin, A., Kharchuk, M. Biosynthesis and characterictics of silver nanoparticles obtained using *Saccharomyces cerevisiae* M437. Ukrainian Food Journal. 2021, 10(3): 615–631.

3. Zare-Bidaki M., Aramjoo H., Mizwari Z. M., et al. Cytotoxicity, antifungal, antioxidant, antibacterial and photodegradation potential of silver nanoparticles mediated via *Medicago sativa* extract. Arabian Journal of Chemistry. 2022, 15(6): 103842.

4. Kanimozhi S., Durga R., Sabithasree M., et al. Biogenic synthesis of silver nanoparticle using *Cissus quadrangularis* extract and its invitro study. Journal of King Saud University-Science, 2022, 34(4): P. 101930.

5. Bolbanabad E. M., Ashengroph M., Darvishi F. Development and evaluation of different strategies for the clean synthesis of silver nanoparticles using *Yarrowia lipolytica* and their antibacterial activity. Process Biochemistry. 2020, 94: 319-328.

6. Skora B., Krajewska U., Nowak A., et al. Noncytotoxic silver nanoparticles as a new antimicrobial strategy. Scientific Reports. 2021, 11(1): 1-13.

Дорогі друзі!

Наш університет, КПІ ім. Ігоря Сікорського, створив «Благодійний фонд підтримки Збройних Сил України «Київський політехнік» (https://kpi.ua/bfpzsu), до якого долучилася значна частина співробітників та студентів університету, перераховуючи частину заробітку або стипендії. Акумульовані кошти фонд використовує для закупівлі необхідних речей для наших захисників.

За бажанням і можливістю, Ви можете також допомогти нашим воїнам, перерахувавши будь-який внесок на рахунок нашого фонду, за що ми будемо Вам дуже вдячні!

Реквізити для переказу (у гривні):
Одержувач: Благодійна організація «Благодійний фонд підтримки Збройних Сил України «Київський політехнік»»;
ЄДРПОУ 44864749;
Рахунок одержувача: UA623204780000026002924927656;
Банк одержувача : АБ «УКРГАЗБАНК».

Dear friends!

Our University, Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, created the "Kyiv Polytechnic Armed Forces Charity Fund" (https://kpi.ua/bfpzsu), to which a number part of the university's employees and students joined, transferring part of their earnings or scholarships. The fund uses the accumulated funds to purchase necessary things for our defenders.

If you wish and if possible, you can also help our soldiers by transferring any contribution to the account of our fund, for which we will be very grateful to you!

Details for the transfer (in hryvnias!):
Recipient: Charitable organization "Kyiv Polytechnic Charitable Fund for the Support of the Armed Forces of Ukraine";
EDRPOU 44864749;
Recipient's account: UA623204780000026002924927656;
Recipient's bank: JSC "UKRGASBANK".