


федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Кемеровский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Компания «Артлайф» г. Томск



**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
РАЗРАБОТКИ ПРОБИОТИКОВ,  
ПРЕБИОТИКОВ, МЕТАБИОТИКОВ  
И ПРИОРИТЕТНЫЕ  
НАПРАВЛЕНИЯ ИХ  
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

**Материалы  
Международной  
научно-практической конференции**

**КЕМЕРОВО**

---

**21 мая 2021 Г**

---

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Кемеровский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Компания «Артлайф» г. Томск

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ РАЗРАБОТКИ  
ПРОБИОТИКОВ, ПРЕБИОТИКОВ,  
МЕТАБИОТИКОВ И ПРИОРИТЕТНЫЕ  
НАПРАВЛЕНИЯ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

**Материалы  
Международной научно-практической конференции**

Кемерово  
21мая 2021 г

---

УДК [61:663.1](082)

ББК 5я43

A437

**Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения : материалы Международной научно-практической конференции (Кемерово, 21 мая 2021г.) /отв. ред. В.М. Позняковский, Е.М. Мальцева – Кемерово: КемГМУ, 2021. – 102 с.**

**В сборнике представлены материалы Международной научно-практической конференции, состоявшейся 21 мая 2021 г в Кемеровском государственном медицинском университете. Участники конференции ученые, преподаватели, аспиранты и студенты вузов России и стран зарубежья, исследования которых посвящены актуальным вопросам и проблемам разработки пробиотиков, пребиотиков и метабиотиков, а также перспективам их применения в медицине, нутрициологии, пищевой промышленности и сельском хозяйстве.**

*Редакционная коллегия выпуска:*

проф., д-р биол. наук В. М. Позняковский (г. Кемерово)

проф., д-р техн. наук А. Н. Австриевских (г. Томск)

канд. техн. наук А. А. Вековцев (г. Томск)

доцент, канд. фармацевт. наук Е. М. Мальцева (г. Кемерово)

канд. биол. наук В. В. Большаков (г. Кемерово)

Материалы публикуются в авторской редакции.

**ISBN 978-5-8151-0161-6**

**© ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный  
медицинский университет» Минздрава России, 2021**



Кемеровский государственный медицинский университет - один из ведущих медицинских ВУЗов России, обладающий достойной историей и инновационными проектами на дальнейшие результаты в учебной и научной деятельности.

Одним из приоритетных направлений в работе университета является его сотрудничество с компанией «Артлайф» - передовым индустриальным партнером мирового уровня.

Мы надеемся, что научный потенциал профессорско-преподавательского состава университета и сотрудников компании «Артлайф» принесет ощутимые результаты в развитии новых здоровьесберегающих технологий и будет способствовать развитию талантов молодых исследователей.

*Руководитель научно-образовательного центра «Прикладная биотехнология и нутрициология»,  
профессор кафедры «Гигиена» Кемеровского государственного медицинского университета,  
Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор биологических наук, профессор  
Позняковский Валерий Михайлович*



«Артлайф» — мощное наукоёмкое производство современных пищевых продуктов на основе биотехнологий, биологически активных комплексов, косметики, желатиновых капсул, лекарственных средств. Основное направление деятельности компании «Артлайф» - разработка наукоёмких специализированных продуктов для профилактики и комплексного лечения распространенных заболеваний.

Биотехнология – передовое направление науки, которое сегодня находится на пике развития. При этом компаний, реализовавших биотехнологии в виде коммерческого продукта, пока очень мало, а потребительский спрос на такой продукт крайне высок. «Артлайф» — первый из российских производителей, запустивший в строй многосторонний биотехнологический комплекс. Здесь работает передовая биотехнологическая лаборатория. Введены в эксплуатацию тысячи квадратных метров новых производственных площадей, цех ферментации растительного сырья. Создана уникальная библиотека штаммов микроорганизмов и грибов, производятся продукты на безмолочной основе, многие из которых не имеют аналогов.

«Артлайф» имеет 420 филиалов в стране, продукция компании представлена в 26 странах мира. Компания уверенно движется вперед, опираясь на мощный интеллектуальный потенциал и тесное сотрудничество с научно-исследовательскими и учебными заведениями, используя новейшие технологии фармацевтической и биотехнологической отраслей промышленности. С Кемеровским государственным медицинским университетом заключен договор о научном сотрудничестве, и мы надеемся, что совместными усилиями будут разработаны новые здоровьесберегающие технологии.

Компания «Артлайф» предоставляет свою научно-производственную базу для студентов, аспирантов и докторантов для выполнения любых амбициозных проектов, воплощения смелых идей в своем научно-исследовательском секторе. Для нас большая честь совместно с университетом получить новый результат сотрудничества и перейти на следующий образовательный и научный уровень.

*Генеральный директор компании «Артлайф»,  
доктор технических наук, профессор  
Австриевских Александр Николаевич*



## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СЕКЦИЯ 1. АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБИОМА ЧЕЛОВЕКА И ЕГО НАРУШЕНИЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ</b>	
<b>А.Б. АБИЛЬСЕЙТОВА</b>	<b>11</b>
<b>МИКРОБИОМА ОРГАНОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ПЕРИОД СЕЗОННЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ</b>	
<b>БОРИСОВА И.С.</b>	<b>14</b>
<b>ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА НА РАЗВИТИЕ ОСТЕОПОРОЗА</b>	
<b>ЗОЛКИН А.Л.<sup>1</sup>, ЧИСТЯКОВ М.С.<sup>2</sup></b>	<b>19</b>
<b>К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ НЕКРОБИОМА НА ПОСТМОРТАЛЬНОЕ РАЗЛОЖЕНИЕ ТРУПА ДЛЯ ЭКСПЕРТНЫХ ЦЕЛЕЙ СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЫ</b>	
<b>ЗУКАЕВА Г.Ш. , ЯСИНМАХАМЕТОВА Н.Я.</b>	<b>22</b>
<b>ВЛИЯНИЯ МИКРОБНОГО ДИСБАЛАНСА НА РАБОТУ ОРГАНИЗМА</b>	
<b>СЕКЦИЯ 2. РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ БАД И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА ОСНОВЕ ПРОБИОТИКОВ, ПРЕБИОТИКОВ, СИНБИОТИКОВ И МЕТАБИОТИКОВ</b>	
<b>АВЕРЬЯНОВА Е.В., ШКОЛЬНИКОВА М.Н.</b>	<b>28</b>
<b>РОЛЬ НАНОТЕХНОЛОГИЙ В ПОВЫШЕНИИ БИОДОСТУПНОСТИ ВИТАМИНА D</b>	
<b>ВЕКОВЦЕВ А.А., АВСТРИЕВСКИХ А.Н., ПОЗНЯКОВСКИЙ В.М.</b>	<b>32</b>
<b>МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА И ЕГО ОПТИМИЗАЦИЯ МИКРОКАПСУЛИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ ПРО-, ПРЕБИОТИКАМИ И ПЕПТИДНЫМИ УЛЬТРАЛИЗАТАМИ</b>	
<b>ВЕСНИНА А.Д., КОЗЛОВА О.В.</b>	<b>37</b>
<b>МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ РАЗРАБОТКИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ АТЕРОСКЛЕРОЗА</b>	
<b>КАМЗОЛОВА С.В., САМОЙЛЕНКО В.А., ЛУНИНА Ю.Н., МОРГУНОВ И.Г.</b>	<b>42</b>
<b>СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ФОРМЫ ИЗОЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ОТХОДОВ СПИРТОВЫХ ПРОИЗВОДСТВ С ПОМОЩЬЮ ДРОЖЖЕЙ <i>YARROWIA LIPOLYTICA</i></b>	



КОТОВА Т. В., ВАЛЬНЮКОВА А. С. КОРРЕКЦИЯ КАЛЬЦИЯ В МОЛОКЕ КОРОВЬЕМ	47
РАДКЕВИЧ А.В., ПОПОВА О.С. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ АДСОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ СОРБЕНТОВ	51
СИДОРОВА Н.А., САВУШКИН А.И. РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ СТЕПЕНИ ИММОБИЛИЗАЦИИ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ <i>LACTOBACILLUS BREVIS</i> НА РАЗЛИЧНЫХ НОСИТЕЛЯХ	54
ШКОЛЬНИКОВА М.Н., АВЕРЬЯНОВА Е.В., РОЖНОВ Е.Д. К ВОПРОСУ ПОВЫШЕНИЯ БИОДОСТУПНОСТИ ФЛАВОНОИДОВ ОБЛЕПИХОВОГО ШРОТА	58
<b>СЕКЦИЯ 3. ПЕРВИЧНЫЕ И ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ И ГРИБОВ И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ</b>	
БУЛАШКО О.Н., ПОЗНЯКОВСКИЙ В.М. ПРОБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММА МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ <i>LACTOBACILLUS RHAMNOSUS</i>	64
МАЛЬЦЕВА Е. М., БОРИСОВА И. С. ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ БОБОВ <i>VIGNA RADIATA L.</i>	67
ПИНЧУК Л.Г. ПРИМЕНЕНИЕ ГРИБОВ РОДА <i>TRICHODERMA</i> В ПРОИЗВОДСТВЕ КОРМОВ	73
ЩЕРБАТОВ Р.Е., ПАНКРАТОВ Т.А. ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ БИОЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ЛИШАЙНИКОВ <i>Cladonia spp.</i>	78
<b>СЕКЦИЯ 4. КОРРЕКЦИЯ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ</b>	
ГРЕНТИКОВА И.Г., МАЛЬЦЕВА Е.М., БОРИСОВА И.С. АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЭУБИОТИКОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ РАВНОВЕСИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА, НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ	85



- МАЛИК М.М., АБДРАХМАНОВ М.Д., АЛТЫНБЕКОВА А., 90  
ЖУМАГАЛИЕВА А.С., ЕНСЕБАЕВА А.А., ТОХТАСЫНОВА К.А.  
**ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: РОЛЬ ПРЕБИОТИКОВ И  
МЕТАБИОТИКОВ ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ**
- МОРГУНОВ И.Г., КАМЗОЛОВА С.В., КАРПУХИНА О.В., 94  
БОКИЕВА С.Б., ЛУНИНА Ю.Н., ИНОЗЕМЦЕВ А.Н.  
**ВЛИЯНИЕ ИЗОЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ НА  
ПРОСТРАНСТВЕННЫЙ КОМПОНЕНТ ПАМЯТИ**
- СЕМЕНОВА А.П. 99  
**ВЛИЯНИЕ КЕФИРНЫХ ГРИБКОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ  
НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА**

**СЕКЦИЯ 1**  
**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ИЗУЧЕНИЯ**  
**МИКРОБИОМА ЧЕЛОВЕКА И ЕГО**  
**НАРУШЕНИЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ**  
**ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

А.Б. АБИЛЬСЕИТОВА  
**МИКРОБИОМА ОРГАНОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ПЕРИОД СЕЗОННЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**  
*«Республиканский высший медицинский колледж», г.Алматы*  
*e-mail: aizat.abilseit@gmail.com*

A.B. ABILSEITOVA  
**MICROBIOME OF THE RESPIRATORY SYSTEM DURING SEASONAL RESPIRATORY DISEASES**  
*"Republican higher medical college", Almaty*  
*e-mail: [aizat.abilseit@gmail.com](mailto:aizat.abilseit@gmail.com)*

**Аннотация:** В данной статье рассматривается состояние микробиомы органов дыхательной системы человека, во время развития воспалительных реакций респираторных заболеваний, проявившихся в результате смены времени года.

**Abstract:** This article examines the state of the microbiome of the human respiratory system, during the development of inflammatory reactions of respiratory diseases, manifested as a result of the change of the season.

**Ключевые слова:** микробиом, респираторный тракт, сезонные заболевания, аллергия, пробиотики, ОРВИ

**Keywords:** microbiome, respiratory tract, seasonal diseases, allergies, probiotics, ARVI

**Цель исследования.** Изучение микробиомы органов дыхательной системы в период сезонных респираторных заболеваний.

**Материалы и методы исследования.** Автором в статье проанализированы научные статьи зарубежных исследователей, в которых раскрываются факторы, влияющие на развитие заболеваний органов дыхательной системы в разное время года.

**Результаты исследования и их обсуждение.** При исследовании было установлено, что воспалительный процесс, который возникает при болезнях респираторного тракта, обусловлен комплексом ряда причин и сезон, температура, и климат являются одним из основных факторов роста заболеваемости среди населения.

Дыхательная система представлена такими органами, как носовая полость, носоглотка, ротоглотка, гортанная часть глотки, гортань, трахея, бронхи и легкие. Органы дыхательной системы являются естественной постоянной мишенью для вирусных и бактериальных агентов, которые, в свою очередь, являются адаптерами для развития респираторных заболеваний, то есть заболеваний, поражающих дыхательные пути, включая носовые ходы, бронхи и

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

легкие. Острые и хронические заболевания дыхательных путей, такие как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), бронхиальная астма, муковисцидоз, идиопатический фиброз легких и др., эти болезни приводят к изменениям в экосистеме легких - снижению напряжения кислорода, вентиляции, перфузии, изменение pH и вязкости секрета, также не исключаются другие осложнения. Все эти нарушения влияют на популяцию микроорганизмов. В то же время измененный состав микробиомы может играть потенциальную роль в патогенезе заболеваний, поскольку микроорганизмы способны модулировать местные воспалительные реакции. [3]

В случае нормальной микрофлоры верхних дыхательных путей большинство из них через некоторое время остается в области носа, поэтому они практически полностью отсутствуют во внешней среде. Бактерии, которые являются частью нормальной микробиоты носа, предотвращают колонизацию носа патогенными микроорганизмами. Верхние дыхательные пути человека служат резервуаром для различных заболеваний и потенциальных патогенов, включая *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis* и *Staphylococcus aureus aureus*. [4] С другой стороны, в нижних дыхательных путях отсутствуют микроорганизмы. Наиболее распространенными из организмов, обнаруживаемых в нижних дыхательных путях, являются род *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Fusobacterium* и *Veillonella*. В настоящее время неясно, составляют ли эти небольшие популяции бактерий нормальную микробиоту или они являются временными. [2] Слизистая оболочка гортани, бронхов трахеи и остальных отделов, благодаря эффективности их эпителия сохраняется стерильной. Процесс воспаления органов респираторного тракта возникает в ряде нескольких причин и одной из этих причин является выраженный дисбактериоз слизистой оболочки, из-за наличия условно-патогенных микроорганизмов. [1]

Наибольшее влияние на рост респираторных заболеваний проявляют наиболее распространенные сезонно-климатические заболевания, осенне-зимние, респираторные заболевания, ОРВИ, грипп, весенне-летняя сезонная аллергия. С конца февраля происходит цветение, в процессе которого пыльца развеивается по воздуху и попадает в организм человека через нос и рот. Поэтому этот период считается особенно тяжелым для тех, у кого наблюдается сезонная аллергия, так как данная аллергия также считается респираторным заболеванием, и существуют различные симптомы сезонной аллергии, наиболее часто встречаются аллергический ринит и конъюнктивит, бронхиальная астма.

Например, если брать на рассмотрение заболевание ОРВИ, можем наблюдать, что риск заражения наиболее высок именно в межсезонье, когда организм ослабевает из-за плохой погоды и ослабленной иммунной системы, а респираторные вирусы быстрее распространяются по кровеносной системе. В северных и южных регионах, согласно наблюдениям пик заболеваемости ОРВИ

приходится на зимний период. В настоящее время существует более 200 типов вирусов, вызывающих ОРВИ. Интенсивность, частота и преобладание некоторых респираторных вирусов зависит от времени и климатических условий. Наиболее распространенными вирусами являются грипп, парагрипп, аденовирус, коронавирус, метапневмовирус человека, респираторно-синцитиальный вирус, риновирус человека и вирус бока. Инфекция может увеличить адгезию бактерий к их взаимоотношениям с эпителиальными клетками и уменьшить фагоцитоз и очищение слизистой оболочки мерцательным эпителием. Эти нарушения местной иммунной системы могут привести к вторичным бактериальным инфекциям в областях, которые обычно должны быть стерильны, например в носовых пазухах. [5]

Чаще всего профилактика и лечение респираторных заболеваний заключаются в устранении или облегчении основных симптомов, таких как жар, кашель, или насморк, лечение не включает воздействие на микробиому органов, и на этиологию. Следует подчеркнуть, что назначение системной антибактериальной терапии показано только при нескольких заболеваниях (группа бета-гемолитических стрептококков, тонзиллит, вызванный пневмонией). В остальных случаях к назначению антибиотиков нужно подходить осторожно из-за возможного воздействия на микрофлору дыхательных путей, повышенной устойчивости к противомикробным препаратам и повышенного риска нежелательных реакций на лекарства. Исследования показали, что активация или присоединение бактериальной инфекции увеличивает тяжесть заболевания и период выздоровления.

На равновесие микробиомы можно воздействовать с помощью микроорганизмов, используемые в терапевтических целях, но на сегодняшний день в Казахстане нет ни одного пробиотика улучшающего микробиом органов дыхательной системы, так как в большей степени пробиотики рассчитаны на восстановление микрофлоры ЖКТ. Было доказано, что интраназальное введение пробиотиков содержащих бактерии *L. rhamnosus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Bifidobacterium bifidum* ослабляют течение астмы.

Исследования состава и функций микробиома человека вызвали большой интерес в научной среде к цели применения и разработки пробиотиков для предотвращения конкретных респираторных заболеваний. Однако вопрос о свойствах пробиотических микроорганизмов, который необходимо подчеркнуть для профилактики или выбора лечения конкретной патологии, остается открытым. Способность введения пробиотиков для профилактики и лечения респираторных заболеваний может быть более эффективной, чем применение некоторых неэффективных препаратов.

**Выводы.** В современной медицине при респираторных заболеваниях часто прибегают к терапевтическому лечению, также рекомендуется

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

применение препаратов способных поддерживать иммунитет, однако мало разрабатывается препаратов защищающих микробиому дыхательной системы. Пробиотики, могли бы положительно сказаться на микробиоме дыхательной системы, такие препараты используются в разных странах.

#### Список литературы.

1. Ланкина М.В. Микрофлора зева человека как показатель определения резистентности организма. Микробиология. 2002; 3: 97–9
2. Bogaert D. The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease. *Phil Trans R Soc* 2015; B370: 20140294. DOI: 10.1098/ rsth.2014.0294
3. Shukla SD, Budden KF, Neal R, Hansbro PM. Microbiome effects on immunity, health and disease in the lung. *Clin Transl Immunology* 2017; 6 (3): e133
4. Murphy T., Bakaletz L., Smeesters P. Microbial interactions in the respiratory tract. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28(10): S121–S126.
5. Manual of Childhood Infections. The Blue Book. Fourth Edition Oxford, 2016; 1032

БОРИСОВА И.С.

#### ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА НА РАЗВИТИЕ ОСТЕОПОРОЗА

*Кемеровский государственный медицинский университет, г. Кемерово*  
*e-mail: [irina.borisova97@mail.ru](mailto:irina.borisova97@mail.ru)*

BORISOVA I. S.

#### INFLUENCE OF THE INTESTINAL MICROBIOME ON THE DEVELOPMENT OF OSTEOPOROSIS

*Kemerovo State Medical University, Kemerovo*  
*e-mail: [irina.borisova97@mail.ru](mailto:irina.borisova97@mail.ru)*

**Аннотация:** Остеопороз – многофакторное заболевание, в основе которого лежат процессы нарушения костного ремоделирования с повышением резорбции костной ткани и снижением костеобразования. Большое количество женщин в периоде менопаузы страдают остеопорозом, связанным с дефицитом эстрогенов. Однако не только они влияют на развитие данного заболевания. Большую роль играет микробиом кишечника, при ухудшении состояния которого наблюдается увеличение процессов резорбции костной ткани.

**Abstract:** Osteoporosis is a multifactorial disease based on the processes of bone remodeling disorders with increased bone resorption and reduced bone formation. A large number of menopausal women suffer from osteoporosis, which is associated with estrogen deficiency. However, not only they affect the development of this

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

disease. An important role is played by the intestinal microbiome, with the deterioration of which there is an increase in the processes of bone resorption.

**Ключевые слова:** микробиом, остеопороз, менопауза, остеопоротические изменения.

**Keywords:** microbiome, osteoporosis, menopause, osteoporotic changes

Остеопороз является одной из основных проблем общественного здравоохранения в связи со старением населения. Во всем мире ежегодно происходит 8,9 миллиона переломов, что приводит к остеопоротическому перелому каждые 3 с. Постменопаузальный остеопороз характеризуется усилением низкосортного системного воспаления, способствующего снижению костной массы и деградации минерального содержания костной ткани, что приводит к потере костной массы и/или переломам.

Причинами развития остеопороза может быть дефицит эстрогенов, неправильное питание, хроническое воспаление, курение, чрезмерное потребление алкоголя и малоподвижный образ жизни. Однако, научные данные, полученные за последние десятилетия, свидетельствуют о том, что микробиом кишечника играет важную роль в энергетическом гомеостазе хозяина, поддержании иммунной системы, метаболической функции и здоровья, а правильная диета может регулировать состав и функцию микробиоты кишечника человека.

Микробиом человека состоит из микробных видов, обитающих в организме человека, и выделяемых ими продуктов. В каждом человеке обитают триллионы микробов – популяция, значительно превосходящая по численности клетки млекопитающих.

Микробиом человека устанавливается вскоре после рождения, обычно путем колонизации микробной флорой, присутствующей в родовых путях. Микробиота формируется впоследствии под воздействием диеты и окружающей среды и достигает устойчивого состояния примерно в три года. Подавляющее большинство микробиома человека находится в желудочно-кишечном тракте. Микробиота кишечника человека состоит из более чем 1000 различных видов микроорганизмов, многие из которых еще недостаточно хорошо охарактеризованы. Примерно две трети микробного видового состава являются уникальными для каждого индивидуума [1].

Как только микробное сообщество в кишечнике устанавливается, оно вступает в динамическое равновесие, поскольку сотни различных видов конкурируют и взаимодействуют друг с другом и иммунной системой хозяина в сложных сетях взаимозависимости. Относительное обилие видов внутри кишечной флоры колеблется изо дня в день в зависимости от изменений в рационе питания, но в целом сохраняет свое базальное конститутивное состояние, несмотря на эти преходящие нарушения.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием



Микробиота дает хозяину преимущества, которые включают производство витаминов, извлечение питательных веществ и энергии из продуктов питания, метаболическую функцию, регуляцию врожденного и адаптивного иммунитета и защиту от патогенных организмов. Изменения в микробиоме были связаны с рядом хронических заболеваний у людей включая воспалительные заболевания кишечника, ожирение, метаболические заболевания, недостаточное питание, неврологические расстройства, рак и сердечно-сосудистые заболевания.

Три потенциальных механизма, посредством которых микробиота кишечника может влиять на костную ткань:

- регуляция всасывания питательных веществ в эпителии кишечника;
- регуляция слизистой оболочки и системной иммунной системы;
- транслокация микробного содержимого через эндотелиальный барьер кишечника, которая приводит к модуляции или активации иммунной системы.

Циркулирующие остеокластогенные цитокины могут быть увеличены в T-клеточном механизме микробиотой, которая может стимулировать резорбцию кости при воспалительных состояниях. В ряде исследований были выявлены микробы, которые регулируют выработку гормонов или улучшают усвоение витаминов, являющихся неотъемлемой частью здоровья костей [2].

Влияние микробиома на структуру и плотность костной ткани было изучено у мышей с использованием двух стандартных инструментов для манипулирования микробиомом: животных без микробов и пероральных антибиотиков. В качестве сравнения использовали мышей со здоровым микробиомом.

В результате исследования, у мышей, у которых отсутствовал микробиом, обнаружилось снижение костной массы. Изменения в костной ткани после этих манипуляций с кишечной флорой значительно различаются между исследованиями. Сообщалось, что изменения в микробиоте кишечника при лечении пероральными антибиотиками так же влияет на плотность костной ткани у мышей, но результаты были неоднозначными, возможно, из-за различий в возрасте животных, используемой антибиотике, графике дозирования и генотипе мыши [3].

В 2019 году В Соединенных Штатах Америки был проведен метагеномный анализ фекальной микробиоты мышей, а также наноразмерный химический анализ костной ткани, где определили изменения в метагеноме кала и химическом составе костной ткани, а также наномеханические свойства, связанные с микробиом-индуцированными изменениями прочности костной ткани, который дает информацию о функциональной способности микробов (все присутствующие гены микроорганизмов), а не только характеризует микробные таксоны. Самцы мышей подвергались нарушению микробиоты кишечника с использованием пероральных антибиотиков (с 4-16-недельного возраста) или

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

оставались необработанными. Было показано, что нарушение микробиома кишечника таким образом приводит к снижению механических свойств тканей и прочности всей кости во взрослом возрасте при незначительных изменениях геометрии и плотности костей. Нарушение микробиома привело к изменениям в количественном составе микробных генов, ответственных за синтез бактериальной клеточной стенки и капсулы; бактериально-синтезированных углеводов; и бактериально-синтезированных витаминов (группы В и К) и было снижено на 32-66% у мышей с нарушенным микробиомом по сравнению с необработанными животными. Это исследование иллюстрирует использование метагеномного анализа для связи микробиома с фенотипами костей и дает предварительные результаты, предполагающие использование микробно-синтезированного витамина К в качестве регулятора качества костного матрикса [4].

Исследования на животных без кишечной микробиоты и обработанных антибиотиками показали возможность влияния микробов кишечника как на накопление костной массы, так и на ее оборот. Эти животные показали снижение числа остеокластических клеток-предшественников, увеличение костной массы, улучшение прочности костей и свойств материала.

Ревматологами Оксфордского университета были изучены позиционные различия в микробиоте кишечника, связанные с гомеостазом костей и переломами в когорте пожилых людей.

Они определяли профили фекальной микробиоты у 181 человека с остеопенией ( $n = 61$ ) или остеопорозом ( $n = 60$ ), а также в группе с нормальной минеральной плотностью костной ткани ( $n = 60$ ), сопоставимой по возрасту и полу.

Выделили шесть родов, которые были значительно изменены в избытке в остеопорозе или остеопенических группах по сравнению с контролем, соответствующим возрасту и полу. Детальное изучение ассоциаций микробиоты с переменными метаданных, включающих состояние здоровья, диету и лекарства, показало, что эти метаданные объясняют 15-17% дисперсии в наборе данных микробиоты. Измерения минеральной плотности костной ткани были значительно связаны с изменениями в микробиоте [5].

**Вывод.** Снижение МПКТ при остеопении и остеопорозе связано с изменением микробиоты. Эти изменения могут быть полезны в качестве биомаркеров или терапевтических мишеней у лиц с высоким риском снижения минеральной плотности костной ткани.

### Список литературы

1. Hernandez CJ, Guss JD, Luna M, Goldring SR. Links Between the Microbiome and Bone. *J Bone Miner Res.* 2016 Sep;31(9):1638-46. doi: 10.1002/jbmr.2887.
2. Aurora R. Confounding factors in the effect of gut microbiota on bone density. *Rheumatology (Oxford).* 2019 Dec 1;58(12):2089-2090. doi: 10.1093/rheumatology/kez347.
3. Guss JD, Horsfield MW, Fontenele FF, Sandoval TN, Luna M, Apoorva F, Lima SF, Bicalho RC, Singh A, Ley RE, van der Meulen MC, Goldring SR, Hernandez CJ. Alterations to the Gut Microbiome Impair Bone Strength and Tissue Material Properties. *J Bone Miner Res.* 2017 Jun;32(6):1343-1353. doi: 10.1002/jbmr.3114.
4. Guss JD, Taylor E, Rouse Z, Roubert S, Higgins CH, Thomas CJ, Baker SP, Vashishth D, Donnelly E, Shea MK, Booth SL, Bicalho RC, Hernandez CJ. The microbial metagenome and bone tissue composition in mice with microbiome-induced reductions in bone strength. *Bone.* 2019 Oct;127:146-154. doi: 10.1016/j.bone.2019.06.010. Epub 2019 Jun 14.
5. Guss JD, Taylor E, Rouse Z, et al. The microbial metagenome and bone tissue composition in mice with microbiome-induced reductions in bone strength. *Bone.* 2019;127:146-154. doi:10.1016/j.bone.2019.06.010
6. Das M, Cronin O, Keohane DM, et al. Gut microbiota alterations associated with reduced bone mineral density in older adults. *Rheumatology (Oxford).* 2019;58(12):2295-2304. doi:10.1093/rheumatology/kez302

ЗОЛКИН А.Л.<sup>1</sup>, ЧИСТЯКОВ М.С.<sup>2</sup>  
**К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ НЕКРОБИОМА НА  
ПОСТМОРТАЛЬНОЕ РАЗЛОЖЕНИЕ ТРУПА ДЛЯ ЭКСПЕРТНЫХ  
ЦЕЛЕЙ СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЫ**

<sup>1</sup>*Кафедра «Информатика и вычислительная техника» Поволжский государственный университет телекоммуникаций и информатики, г. Самара;  
Кафедра естественно-научных дисциплин Частного учреждения образовательной организации высшего образования «Медицинский университет «Реавиз» (Реавиз), г. Самара  
e-mail: alzolkin@list.ru*

<sup>2</sup>*Отдел контроля и надзора в сфере здравоохранения, обращения лекарственных средств и медицинских изделий Территориальное управление Росздравнадзора по Владимирской области, г. Владимир  
e-mail: shreyamax@mail.ru*

ZOLKIN A. L.<sup>1</sup>, CHISTYAKOV M. S.<sup>2</sup>  
**TO THE QUESTION ABOUT THE INFLUENCE OF A NECROBIOMA ON  
POST-MORTAL DECOMPOSITION OF THE CORK FOR EXPERT  
PURPOSES OF FORENSIC MEDICINE**

<sup>1</sup>*Povolzhskiy State University of Telecommunications and Informatics (PGUTY), Faculty of Information Systems and Technologies, Ph.D. (Engineering), Associate Professor of the Department of Computer Science and Computer Engineering, Samara; Private institution of higher education "Medical University" Reaviz  
e-mail: alzolkin@list.ru*

*Ph.D. (Engineering), Associate Professor of the Natural Sciences Department*  
<sup>2</sup>*Department of control and supervision in the field of health care, drugs and medical devices circulation Territorial Directorate of Roszdravnadzor (Federal Health Care Supervisory Agency) in the Vladimir Region, Vladimir  
e-mail: shreyamax@mail.ru*

**Аннотация.** Статья посвящена рассмотрению влияния некробиомной флоры на разложение трупных останков в ракурсе использования идентификации деятельности микрофлоры для целей судебно-медицинской экспертизы.

**Abstract:** The article is devoted to the consideration of the influence of the necrobiome flora on the decomposition of cadaveric remains from the perspective of using the identification of the activity of microflora for the purposes of forensic medical examination.

**Ключевые слова:** некробиом, постмортальный, гниение, разложение, труп, судебно-медицинская экспертиза.

**Keywords:** necrobiome, postmortem, rotting, decomposition, corpse, forensic examination.

От того, в каких условиях находится труп, зависит интенсивность изменений, их хронологическое протекание в последовательной цепочке разложения. Изменения могут протекать в течение месяцев и даже лет, в зависимости от совокупности факторов среды нахождения останков, к которым относится трупная и окружающая микрофлора.

Перечислим визуальные признаки естественных постмортальных трансформаций.

Визуальные признаки естественных постмортальных трансформаций.

<i>Быстрые</i>	<i>Отсроченные</i>	<i>Консервирующие</i>
Динамика температуры	Гнилостно-венозная сеть	Мумификация
Трупные пятна	Трупная зелень	Жировосковые изменения
Окоченение мышечной ткани	Гнилостная эмфизема	Торфяное дубление
Высыхание покровов	Гнилостные пузырьчатые изменения	Криогенное замораживание
Аутолиз	Трупная гнилостная имбибиция	Редкие проявления консервации в природных средах

Гниение связано с поздними посмортальными изменениями деструкции трупа в результате деятельности микроорганической флоры по разложению азотсодержащих белковых соединений. С целью ориентировочного суждения о хронологии смерти изучается степень гнилостных постмортальных изменений трупа, их развитие.

Интенсивность разложения трупов является индикативным показателем некробиома, его качественных и количественных характеристик. Трупные останки, как известно, являются источником азотсоединений для различных микроорганизмов [2], оказывающих соответствующую направленность на его разложение [3]. Отметим, что доминантная микрофлора эколого-трофической группы является объектом изучения судебной экспертизы ввиду особенностей активной конкуренции выживания с некрофильными насекомыми, в симбиозе представляющими комплекс деструкторов разложения останков животного происхождения [5]. Тем самым становится возможным установление хронологических показателей наступления смерти. И хотя разложение трупов – процесс непрерывный, необратимый и хронологически продолжительный,

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

остается актуальным вопрос верификации в судебной медицине продолжительности постмортального периода данного биологического процесса.

В качестве действенного инструментария в перспективном направлении хронологической идентификации давности наступления смерти представляется изучение гнилостных трансформационных изменений трупа посредством некробиомной эволюции останков, являющейся неотъемлемой частью процесса разложения в комплексе с факторами средового фона.

Поскольку обязательным условием разложения биологического объекта, его последующей мумификации является последовательная смена аэробных микроорганизмов на анаэробные – данный процесс биологии разложения может быть использован для идентификации хронологии наступления смерти. В условиях аэробной среды белковые соединения подвержены более глубокому расщеплению – до воды и газов. Вещества в анаэробной среде менее разрушаемы, но продукты распада представляют собой более токсичные соединения. Трупные яды, или птомаины, – обязательное следствие процесса гниения.

J. L. Metcalf с соавторами [4] определил грибы и бактерии, влияющие на азотистый цикл, а также редуцентов, появляющиеся в определенный хронологический период.

Тем не менее, несмотря на значительные достижения биологии и медицины проблематика хронологического определения постмортального периода во всех проявлениях процесса гниения трупа окончательно не решена. Большинство судебных медиков определяют наступление постмортального периода опираясь на методы макроскопического анализа.

Судебно-медицинская практика, как с научной, так и с практической точки зрения, представляет собой сложную и ответственную область экспертной работы. От того, насколько грамотно и квалифицированно произведена экспертиза, зависят выводы соответствующих структур, инициирующих данную работу.

Необходима дальнейшая последовательная ревизия используемого методологического аппарата, в том числе с целью практического приложения методик микробиологического характера для верификации хронологии разложения органических останков для нужд судебной медицины.

### Список литературы

1. Alipour E., Alimohammady F., Yumashev A., Maselena A. A. Fullerene C60 containing porphyrinlike metal center as drug delivery system for ibuprofen drug. Journal of Molecular Modeling. 2020. Т. 26. № 1. Р. 7.



2. Felsmann M. Z., Szarek J., Felsmann M., Babinska I. Factors affecting temporary cavity generation during gunshot wound formation in animals – new aspects in the light of flow mechanics: a review. *Veterinari medicina*. 2012. V. 57. P.569-574.
3. Kasper J., Mumm R., Ruther J. The composition of carcass volatile profiles in relation to storage time and climate conditions. *Forensic Science International*. 2012. V. 223. P.64-71.
4. Metcalf J. L., Xu Z h . Z., Weiss S. et al. Microbial community assembly and metabolic function during mammalian corpse decomposition // *Science*. Vol. 351. Issue 6269. P. 158–162.
5. Rozen D. E., Engeimoor D. J. P., Smiseth P. T. Antimicrobial strategies in burying beetles breeding on carrion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008. V. 105. P.17890- 17895.

**ЗУКАЕВА Г.Ш. , ЯСИНМАХАМЕТОВА Н.Я.  
ВЛИЯНИЯ МИКРОБНОГО ДИСБАЛАНСА  
НА РАБОТУ ОРГАНИЗМА**

*Республиканский Высший Медицинский Колледж», г . Алматы  
e-mail: [yalkunjanovna1@gmail.com](mailto:yalkunjanovna1@gmail.com). [baarzukaeva@gmail.com](mailto:baarzukaeva@gmail.com)*

**ZUKAEVA G.Sh., YASINMAKHAMETOVA N.Ya  
EFFETS OF MICROBIAL IMBALANCE ON THE BODY'S WORK**  
*«Republican Higher Medical College», Almaty  
e-mail: [yalkunjanovna1@gmail.com](mailto:yalkunjanovna1@gmail.com). [baarzukaeva@gmail.com](mailto:baarzukaeva@gmail.com)*

**Аннотация:** Нами были рассмотрены вопросы, как микробный дисбаланс кишечника (дисбиоз) может привести к дисфункции механизмов хозяина, тем самым способствуя патогенезу и прогрессированию широкого спектра заболеваний.

**Abstract:** We examined the issues of how microbial imbalance of the intestine (dysbiosis) can lead to dysfunction of host mechanisms, thereby contributing to the pathogenesis and progression of widespread disease.

**Ключевые слова:** Микробиота, микробный дисбаланс, инфекционное заболевание, воспалительные заболевания кишечника.

**Keywords:** Microbiota, microbial imbalance, infectious disease, inflammatory bowel disease.

Микробиом человека, полный набор микроорганизмов (микробиота), которые живут на человеке и в человеке, и, более конкретно, набор микробных геномов, которые вносят вклад в более широкий генетический портрет или

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием



метагеном человека. Геномы, составляющие микробиом человека, представляют собой удивительно разнообразный набор микроорганизмов, который включает бактерии, археи (примитивные одноклеточные организмы), грибы и даже некоторые простейшие и неживые вирусы. Бактерии, безусловно, являются наиболее многочисленными членами микробиома человека: только бактериальная популяция оценивается от 75 до 200 триллионов отдельных организмов, в то время как все человеческое тело состоит примерно из 50-100 триллионов соматических (телесных) клеток. Обилие микробов предполагает, что человеческое тело на самом деле является «надорганизмом», совокупностью человеческих и микробных клеток и генов и, следовательно, смесью человеческих и микробных черт.

Интерес к микробиому человека, в частности к микробиому кишечника, в последние десятилетия расцвел благодаря быстрому развитию скрининга на основе последовательностей и гуманизированной гнотобиотической модели при изучении динамических операций комменсальной микробиоты. Мы подробно рассмотрим, как микробный дисбаланс кишечника (дисбиоз) может привести к дисфункции механизмов хозяина, тем самым способствуя патогенезу и/или прогрессированию широкого спектра заболеваний. Новые методы лечения, полученные на основе исследований микробиома, таких как трансплантация фекальной микробиоты, пробиотики и пребиотики для таргетной терапии ассоциированных заболеваний, были пересмотрены, чтобы представить идею о том, как определенные симптомы заболевания могут быть улучшены путем коррекции дисбиоза, тем самым раскрывая новый научный подход к лечению заболеваний.

Микробиом кишечника и его многообразные функции.

Симбиотические отношения между микробиотой кишечника и хозяином регулируются и стабилизируются сложной сетью взаимодействий, включающих метаболические, иммунные и нейроэндокринные перекрестные помехи между ними. Эта перекрестная помеха потенциально опосредована синтезированными микробами метаболитами, которые проявляют плейотропные эффекты, в том числе действуя в качестве сигнальных молекул в регуляции нейро-иммунно-воспалительных осей хозяина, которые могут физиологически связывать кишечник с другими системами органов.

Микробиота кишечника играет важную роль в ферментации неабсорбированного крахмала и растворимых пищевых волокон. Ферментированные конечные продукты существуют в виде SCFAs. SCFA действуют как один из энергетических субстратов для хозяина тем самым внося дополнительные 10% суточной диетической энергии для использования хозяином для других метаболических процессов. Синтезированные микробами SCFAs вносят 70% продукции АТФ в толстой кишке, причем бутират является предпочтительным топливом для колоноцитов.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

**Микробиом кишечника и заболевания.** Внешние факторы (такие как потребление антибиотиков, диетический компонент, психологический и физический стресс) и факторы хозяина могут вызывать дисбактериоз микробиома кишечника. Дисбиоз, вероятно, нарушит нормальное функционирование кишечной микробиоты в поддержании благополучия хозяина и потенциально может вызвать выборочный подсчет определенных членов микробиоты, включая патобионтов, что приведет к нарушению регуляции производства продуктов или метаболитов микробного происхождения, которые могут быть вредными для хозяина, вызывая разнообразные ряд заболеваний местного, системного или удаленного органа, при этом некоторые из наиболее заметных заболеваний вместе с их соответствующей терапией на основе микробиома обсуждаются ниже.

**Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК).** ВЗК-это группа многофакторных, идиопатических, персистирующих и рецидивирующих воспалений желудочно-кишечного тракта. Одна из возможных этиологий ВЗК связана с гиперреактивностью Т-лимфоцитов к непатогенным антигенам, представленным в кишечной микробиоте. В нескольких исследованиях наблюдалось развитие антител против комменсальных микробных антигенов и аутоантигенов. Селективная потеря толерантности к кишечной микробиоте у пациента с ВЗК с aberrантным иммунным ответом приводит к дисбактериозу и потере микробиоты, которая может быть ответственна за поддержание целостности слизистого барьера кишечника. Нарушение барьерной функции впоследствии увеличивает экспозицию между кишечной микробиотой и эпителиальными клетками, вызывая дальнейшую стимуляцию местного иммунитета, способствуя тяжелому воспалению кишечника. Исследования ясно показывают, что дисбактериоз в желудочно-кишечном микробиоме может быть вторичным следствием воспаления желудочно-кишечного тракта. Еще одной дисбиотической особенностью, наблюдаемой у пациентов с ВЗК, является повышение уровня вирулентных кишечных микробов, таких как *Enterobacteriaceae species* и *Bacteroides fragilis*, причем оба вида имеют высокие эндотоксические ЛПС в своих наружных мембранах. ВЗК-кишечный микробиом-это первоначальное нарушение барьерной функции кишечной слизи (либо из-за дисбактериоза, либо из-за других факторов), приводящее к повышению уровня слизеедных (муколитических) видов кишечных микробов, что, в свою очередь, ухудшает барьерную функцию и стимулирует тяжелую воспалительную реакцию.

**Ожирение.** В последние годы недавно идентифицированный фактор - микробиом кишечника, который в значительной степени участвует в регуляции метаболизма хозяина, был интегрирован в исследования перекрестных помех между генетическими факторами, поведением и факторами окружающей среды как возможными факторами ожирения. Это связано с повышенным

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

потреблением энергии и снижением расхода энергии, вызывая чрезмерное накопление жира с повышенным индексом массы тела, и связано с метаболическим синдромом, повышая риск развития расстройств, связанных с ожирением, у лиц с ожирением.

Чрезмерная представленность сахаролитической микробиоты кишечника способствует увеличению переваривания пищи, что приводит к более высокому сбору энергии и увеличению отложения жира, что способствует развитию ожирения.

Поскольку связанное с ожирением нарушение обмена веществ связано с дисбактериозом кишечной микробиоты, выборочная модуляция микробного состава с помощью диетического вмешательства, такого как введение пребиотиков или пробиотиков, может быть многообещающим терапевтическим подходом. Результаты демонстрируют многообещающее применение пребиотиков и пробиотиков для лечения ожирения, однако для обоснования этих стратегий лечения и их соответствующих показателей успеха требуются дополнительные подтверждающие данные, полученные на человеческих моделях и клинических испытаниях.

**Выводы.** Микробный дисбаланс кишечника (дисбиоз) может привести к дисфункции механизмов хозяина, тем самым способствуя патогенезу и/или прогрессированию широкого спектра заболеваний.

Новые методы лечения, полученные на основе исследований микробиома, таких как трансплантация фекальной микробиоты, пробиотики и пребиотики для таргетной терапии ассоциированных заболеваний, были пересмотрены, чтобы представить идею о том, как определенные симптомы заболевания могут быть улучшены путем коррекции дисбиоза, тем самым раскрывая новый научный подход к лечению заболеваний. Огромные данные продемонстрировали сильную связь кишечного микробиома с метаболизмом хозяина, иммунным и нейроэндокринным гомеостазом, а также возможную дисрегуляцию или изменение кишечного микробиома. Нарушение такого тонкого равновесия, в свою очередь, будет способствовать проявлению болезни.

Таким образом, область исследований микробиома человека все еще относительно нова, но быстро растет, демонстрируя несколько предварительных, но многообещающих исследований модулирующей роли микробиома человека в здоровье и болезнях человека. Будущие применения микробиомной диагностики заболеваний, мониторинга прогноза, профилактики и лечения, которые демонстрируют большой потенциал для революционизации текущих мер в области управления и лечения заболеваний, безусловно, стоит ожидать.

### Список литературы

1. Любецкая, А. В. Применение потоковой модели для изучения метаболизма *Escherichia coli* / А. В. Любецкая, Л. И. Рубанов, М. С. Гельфанд // Биохимия – 2006. – Т. 71. №11. – С.1544 – 1549.
2. Олескин, А. В. Нейрохимия, симбиотическая микрофлора и питание (биополитический подход) // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2009. – № 1. – С. 8–16.
3. Орешко, Л. С. Метаболические эффекты и их роль в функционировании желудочно-кишечного тракта у больных целиакией / Л. С. Орешко, М. С. Балагаева, Ю. С. Крылова, Н. В. Ратманова, Е. А. Соловьева // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2012. – №1, С. 27 – 28.

**СЕКЦИЯ 2  
РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ БАД И  
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА  
ОСНОВЕ ПРОБИОТИКОВ, ПРЕБИОТИКОВ,  
СИНБИОТИКОВ И МЕТАБИОТИКОВ**

<sup>1</sup>АВЕРЬЯНОВА Е.В., <sup>2</sup>ШКОЛЬНИКОВА М.Н.  
**РОЛЬ НАНОТЕХНОЛОГИЙ В ПОВЫШЕНИИ БИОДОСТУПНОСТИ  
ВИТАМИНА D**

<sup>1</sup>*Бийский технологический институт, г. Бийск*  
<sup>2</sup>*Уральский государственный экономический университет,  
г. Екатеринбург*  
*e-mail: [averianova.ev@bti.secna.ru](mailto:averianova.ev@bti.secna.ru)*

<sup>1</sup>AVERYANOVA E.V., <sup>2</sup>SHKOLNIKOVA M.N.  
**THE ROLE OF NANOTECHNOLOGY IN INCREASING THE  
BIOAVAILABILITY OF VITAMIN D**

<sup>1</sup>*Biysk Technological Institute, Biysk*  
<sup>2</sup>*Ural State University of Economics, Yekaterinburg*  
*e-mail: [averianova.ev@bti.secna.ru](mailto:averianova.ev@bti.secna.ru)*

**Аннотация:** Порядка 80 % россиян испытывают дефицит витамина D, который играет решающую роль в минеральном гомеостазе и обеспечении здоровья костей скелета. Однако основным недостатком витамина D, является его ограниченная биодоступность. В работе обобщены имеющиеся на сегодняшний день сведения о повышении биодоступности витамина D методами нанотехнологии и преимущества его липосомальной формы.

**Abstract:** About 80 % of Russians are deficient in vitamin D, which plays a crucial role in mineral homeostasis and ensuring the health of the bones of the skeleton. However, the disadvantage of vitamin D, is limited bioavailability. The paper summarizes the available data on increasing the bioavailability of vitamin D by nanotechnology methods and the advantages of its liposomal form.

**Ключевые слова:** витамин D, биодоступность, нанотехнологии, липосомы.

**Keywords:** vitamin D, bioavailability, nanotechnology, liposome's.

**Цель исследования.** Витамин D (холекальциферол) как липофильный препарат следует принимать в соответствии с рекомендуемой дозировкой: средняя суточная потребность взрослого человека составляет от 1000 до 2000 международных единиц (МЕ) [1]. Этот витамин является хорошим кандидатом для инкапсуляции в системы доставки лекарств из-за высокой активности (1 МЕ равен 0,025 мкг), относительно низкой суточной потребности (25-50 мкг/день) и высокой липофильности, так как большинство носителей являются липофильными по природе, и, как правило, чем липофильнее активное вещество, тем лучше эффективность инкапсуляции и тем ниже нежелательное высвобождение [4].

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

**Материалы и методы.** Материалами исследования послужили научные данные по наноразмерным формам доставки витамина *D* для его эффективной интернализации в клетку. Методами аналитического исследования явились: тематический поиск данных в электронных базах *Medline*, *Embase*, *Scopus*, *Web of Science*, *Google Scholar* и *e.library* без языковых ограничений, систематизация, анализ и обобщение.

**Результаты исследования и их обсуждение.** В современной литературе описаны различные агенты доставки витамина *D*: микрочастицы, микросферы, микрогели, наночастицы, твердые наночастицы на основе липидов, наноэмульсии, наномицеллы, Self-nano эмульгирующая система доставки (технология *SNEDDs*), нановолокна, слоистый двойной контейнер (технология *LDH NPs*) и др. (рис. 1).

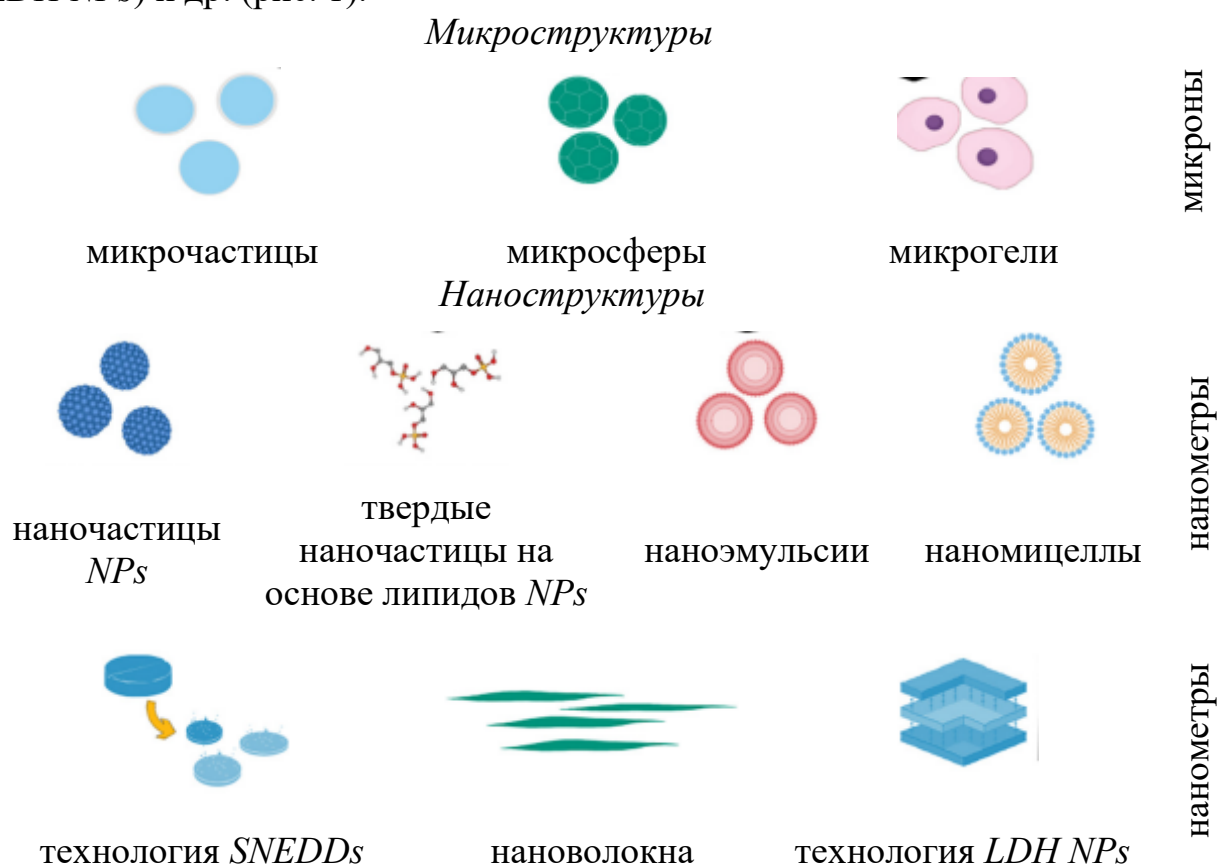


Рисунок 1 – Системы доставки жирорастворимых витаминов

Наиболее изученной и практически значимой формой доставки витамина *D* является липосомальная. Ее эффективность обусловлена биодоступностью (доставка содержимого внутрь клетки) и скоростью высвобождения. Механизм клеточной интернализации БАВ в составе различных липосомальных систем подробно описан в работе *Shishir M.R.I.* и др. [5].



Как правило, липосомы интернализируются в клетку методом эндоцитоза в составе клеточных эндоцитов с последующим высвобождением липосомного содержимого в цитоплазму. Катионные липосомы способны доставлять содержимое в клетку путем слияния мембран. Скрытые липосомы не поглощаются клетками, а постепенно высвобождают содержимое во внеклеточную среду, которая затем попадает в клетки путем диффузии или пиноцитоза. Липосомы, нацеленные на лиганд, проникают в клетку рецептор-опосредованным путем эндоцитоза, с последующим удалением лиганд и высвобождением БАВ. В тераностических липосомах молекула действующего вещества конъюгирована с лигандом для доставки через клеточную мембрану.

Известно, что практически полное высвобождение витамина *D* из липосом в условиях *in vitro* осуществляется в течение 10 ч. При этом скорость высвобождения витамина *D* особенно высокая в первый час приема пищи, что связано с высвобождением холекальциферола непосредственно с поверхности или в бислое близко к поверхности [3].

Благодаря гидрофобной природе витамина *D* (растворимость витамина *D* в воде –  $2,22 \times 10^{-5}$  мг/л), он располагается в гидрофобной части бислоя липосомы. Поэтому на размер частиц и эффективность удерживания витамина *D* в составе липосом оказывают влияние как природа фосфолипида, так и методы инкапсулирования.

ПЭМ-изображение липосом, нагруженных витамином *D*, полученное с помощью просвечивающего (трансмиссионного) электронного микроскопа дает двумерную картину распределения плотности прошедшего электронного потока через образец и показывает, что липосомы витамина *D* представляют собой липидные однослойные везикулы (рис. 2).

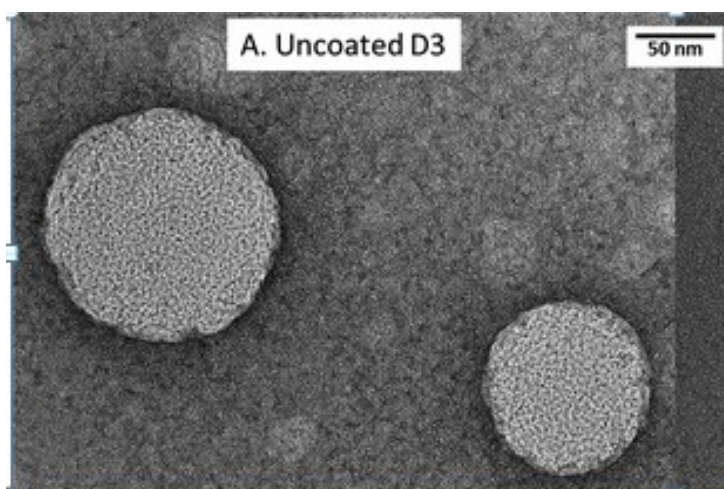


Рисунок 2 – ПЭМ-изображение липосом витамина *D* [2]

Согласно рис. 2, наночастицы липосом сферической формы имеют наибольшее соотношение поверхности к объему, что улучшает диспергируемость, высвобождение, увеличивает растворимость, антиоксидантную активность и другие свойства наночастиц в водных средах. В результате чего липосомы становятся все более востребованными формами инкапсулирования, в том числе для перорального употребления.

Диаметр нагруженных витамином *D* липосом, практически не отличается от ненагруженных – 88,3 нм и 87,4 нм, соответственно, а индекс полидисперсности *PDI* имеет относительно низкое значение и составляет 0,4. Близкие размерные характеристики нагруженных и ненагруженных липосом можно объяснить структурными особенностями молекулы витамина *D* (молекулярная масса 384,33): витамин *D* включается в бислое фосфатидилхолина между углеводородными цепями молекул фосфолипидов, нарушая фазовый переход гель-жидкость. Таким образом, витамин *D* в липидном бислое способен обмениваться с фосфолипидной мембраной, образуя неупорядоченные структуры с более низкими температурами плавления, снижая текучесть мембраны по сравнению с ненагруженными липосомами [2]. Оценка эффективности загрузки витамина *D* в липосомы показала, что она составляет от 62,5 % [3] до 90 % [2] и зависит от способа инкапсулирования.

**Выводы.** Таким образом, проведенный аналитический обзор свидетельствует о перспективности использования липосом в качестве эффективных средств доставки жирорастворимых витаминов, в том числе холекальциферола, особенно при пероральном употреблении. Обозначена перспектива инкапсулирования витамина *D* в липосомы для конструирования составов БАД и пищевых микроингредиентов.

### Список литературы

1. Cavalier E., Delanaye P., Chapelle J.P., Souberbielle J.C. Vitamin D: current status and perspectives // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2009. – Vol. 47, № 2. – P. 120-127 DOI: [10.1515/CCLM.2009.036](https://doi.org/10.1515/CCLM.2009.036).
2. Dalmoro A., Bochicchio S., Lamberti G., Bertocin P., Janssens B., Barba A.A. Micronutrients encapsulation in enhanced nanoliposomal carriers by a novel preparative technology // *RSC Advances*. – 2019. – Vol. 9, № 34. – P. 19800-19812 DOI: [10.1039/c9ra03022k](https://doi.org/10.1039/c9ra03022k).
3. Didar Z. Enrichment of dark chocolate with vitamin D-3 (free or liposome) and assessment quality parameters // *Journal of Food Science and Technology-Mysore*. – 2020. – P. 1-8 DOI: [10.1007/s13197-020-04810-x](https://doi.org/10.1007/s13197-020-04810-x).
4. Glowka E., Stasiak J., Lulek J. Drug Delivery Systems for Vitamin D Supplementation and Therapy // *Pharmaceutics*. – 2019. – Vol. 11, № 7. – P. 347-368 DOI: [10.3390/pharmaceutics11070347](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11070347).

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

5. Shishir M.R.I., Karim N., Gowd V., Zheng X.D., Chen W. Liposomal delivery of natural product: A promising approach in health research // Trends in Food Science & Technology. – 2019. – Vol. 85. – P. 177-200  
DOI: 10.1016/j.tifs.2019.01.013.

ВЕКОВЦЕВ А.А.<sup>1</sup>, АВСТРИЕВСКИХ А.Н.<sup>1</sup>, ПОЗНЯКОВСКИЙ В.М.<sup>2</sup>  
**МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА И ЕГО ОПТИМИЗАЦИЯ  
МИКРОКАПСУЛИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ ПРО-, ПРЕБИОТИКАМИ  
И ПЕПТИДНЫМИ УЛЬТРАЛИЗАТАМИ**

<sup>1</sup> Компания «Арт Лайф», г. Томск, Россия,

<sup>2</sup> Кемеровский государственный медицинский университет, г. Кемерово,  
Россия

e-mail: [pvm1947@bk.ru](mailto:pvm1947@bk.ru)

VEKOVITSEV A.A. 1, AUSTRIEVSKIKH A.N. 1, POZNYAKOVSKY V.M. 2  
**HUMAN MICROBIOME AND ITS OPTIMIZATION BY  
MICROCAPSULATED FORMS OF PRO-, PREBIOTICS AND PEPTIDE  
ULTRALYSTS**

<sup>1</sup> Art Life Company, Tomsk, Russia,

<sup>2</sup> Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

e-mail: [pvm1947@bk.ru](mailto:pvm1947@bk.ru)

**Аннотация:** Разработана новая форма БАД, содержащая про- и пребиотики, рекомендуемая в качестве источника лакто-, бифидобактерий и бета-глюкана - программы формирования кишечной микрофлоры. Установлены регламентируемые показатели качества.

**Abstract:** A new form of dietary supplements containing pro - and prebiotics has been developed, which is recommended as a source of lacto -, bifidobacteria and beta-glucan-a program for the formation of intestinal microflora. Regulated quality indicators are established.

**Ключевые слова:** микробиом, про-, пребиотики, пептидные ультрализаты, нормализация микрофлоры.

**Keywords:** microbiome, pro -, prebiotics, peptide ultralysates, microflora normalization.

Формирование кишечной микрофлоры путем направленного использования про-, пре- и метабиотиков – одно из приоритетных направлений современной биотехнологии и нутрициологии [1-3].

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

Практическая востребованность этого вектора исследования связана с влиянием микробного сообщества кишечника на функциональное состояние органов и систем организма, возможностью коррекции обменных нарушений при различных заболеваниях [4-6].

Научно обоснован композиционный состав специализированного продукта в форме БАД, функциональные свойства ингредиентов направлены на поддержание физиологической флоры тонкого и толстого кишечника, формирования иммунитета, профилактику кишечных инфекций, предотвращение диспептических расстройств и нормализацию процессов пищеварения.

Пептидные ультрализаты – ферменты расщепления пробиотически бактериальных клеток в виде их стенок и внутриклеточного содержимого. Лизаты различных бактерий идентифицируются по составу пептидов и аминокислот.

Пептидный ультрализат (*Propionibacterium freudenreichii*). Пробиотик, выделенный из швейцарского сыра. Используется в качестве ингибитора микробной порчи сельскохозяйственного сырья и пищевой продукции. Является продуцентом цианокобаламина (витамина В<sub>12</sub>), уксусной и пропионовой кислот. Последние обеспечивают антибактериальный эффект, участвуют в поддержании ионного обмена, энергообеспечении эпителия кишечника, поставке субстратов глюконеогенеза, регуляции дифференцировки и пролиферации эпителия, блокировке адгезии патогенов к эпителиальной ткани. Витамин В<sub>12</sub> входит в состав многочисленных ферментов в качестве кофактора, проявляя активность в осуществлении процессов кроветворения (созревание эритроцитов), регулирует содержание холестерина в крови.

*Propionibacterium arabinosum*. Продуцирует в процессе жизнедеятельности трегалозу, пропионовую кислоту и витамин В<sub>12</sub>.

Трегалоза защищает клетку от стрессового воздействия изменений осмотического давления, температуры, обезвоживания и др.

Пропионовая кислота увеличивает чувствительность к инсулину, снижает уровень насыщенных жирных кислот в плазме крови и печени, препятствует адгезии патогенов к эпителию кишечника, проявляет антимикробное действие. Используется эпителиоцитами в качестве субстрата для образования энергии, обеспечивая значительную часть (до 60-80%) энергетических потребностей эпителия кишечника.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

Цианокоболамин необходим для нормального функционирования нервной системы, тканевого и клеточного обмена, принимает участие в образовании эритроцитов, синтезе нуклеиновых кислот.

*Bifidobacterium infatis*. Обладает способностью ингибировать условно-патогенные микроорганизмы и нормализовать микрофлору желудочно-кишечного тракта. Устойчив к желудочному соку и желчи, ряду антибиотиков, хороший костеобразователь, апирогенен и непатогенен.

*B. infatis* эффективен в отношении снижения продукции эндотоксинов – бактериальных токсических веществ, которые высвобождаются при лизисе бактериальной клетки. Эта роль бифидобактерии имеет особое значение в профилактике многих патологий, в том числе воспалительных заболеваниях кишечника, учитывая возникновение метаболической эндотоксмии. Под действием эндотоксинов. Эндотоксмия провоцирует системное воспаление за счет индукции провоспалительных медиаторов.

*Bifidobacterium bifidum*. Генетической особенностью является устойчивость штамма к стрептомицину, мономицину, гентамицину, канамицину, другим антибиотикам. Антагонистически активен в отношении энтеропатогенных кишечных палочек, шигелл Флекснера и Зоне. В качестве стартовой культуры используется при изготовлении бифидосодержащих препаратов.

*Bifidobacterium breve*. Новорожденные, проходя у матери по родовым путям, приобретают рассматриваемую флору, поэтому штамм *Bifidobacterium breve* выделен из влагалища здоровой женщины репродуктивного возраста. Получены экспериментальные доказательства об ингибирующем влиянии бифидобактерии на рост условно-патогенных микроорганизмов – *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*. Вызывая позитивные изменения микрофлоры штамм повышает уровень лактобацилл и бифидобактерий, обеспечивая доминирующее содержание молочнокислых бактерий и коррекцию дисбиотических нарушений.

*Bifidobacterium longum*. Полезные свойства этого штамма реализуются через его способность участвовать в дифференцированном производстве противовоспалительных Т-хелперов Th-2 и цитокинов. Показана способность бифидобактерий к формированию гуморального иммунного ответа путем индуцирования продукции Th-2 – цитокина IL – 10 и активации В-Лимфоцитов. Иммунный эффект штамма связан с непосредственным действием живых

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**



микробных клеток и их структурных компонентов – ДНК, пептидогликанами, липотейхоевой кислотой, другими соединениями, которые могут быть использованы в виде живых фильтратов.

*Lactobacillus acidophilus*. Обладает способностью сбраживать маннозу, глюкозу, мальтозу, лактозу и сахарозу. В отличие от известных ацидофильных штаммов обладает высоко протеолитической активностью, низким пределом кислотообразования при предельной кислотности штамма 50 °С, не подвержен фагам. Применяется при изготовлении детских молочных продуктов, которые способствуют нормализации микрофлоры кишечника: снижаются споровые формы бактерий, стафилококки, энтерококки при увеличении количественного содержания полезных бактерий.

*Lactobacillus casei*. Используется при ферментировании кисломолочной продукции в качестве закваски, выделен из итальянского сыра. Нормализует микрофлору кишечника, обладает высокой жизнедеятельностью.

Лактулоза. Пробиотик, обеспечивающий благоприятный баланс кишечной флоры за счет активизации роста бифидо-, лактобактерий и других полезных микроорганизмов и подавление потенциально патогенных бактерий - *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. И др.

Инулин. Полисахарид, относящийся к группе пищевых волокон, не переваривается пищеварительными ферментами, выполняют функции пробиотика.

Фибрегам. Так же является представителем пищевых волокон и используется в качестве пребиотика. Представляет собой эксудат, получены из смолы акации.

Витамин В<sub>1</sub> и В<sub>6</sub>. Коферментные формы тиамина и пиридоксина – факторы роста, участвующие в многочисленных процессах обмена, в том числе формировании и функционировании микробиоты.

Рецептура БАД включает ингредиенты.

- Биомассы сухих селективных бактерий, в мг/ 1 капс массой 476 мг: *Bifidobacterium bifidum*- 60; *Lactobacillus casei*- 60; *Bifidobacterium infantis*- 50; *Lactobacillus rhamnosus*- 50; *Lactobacillus acidophilus*- 50; *Bifidobacterium longum*- 30; *Bifidobacterium breve*- 30; инулин- 13,9; бета-глюкан- 15; фибрегам В- 5; лактулоза- 5; ультрализат пептидный *Propionibacterium freudenreichii* – 3; ультрализат пептидный *Propionibacterium arabinosum*- 3.

В качестве вспомогательных материалов использовались: капсула желатиновая- 76; антислеживающий агенты тальк- 12 и стеарат кальций – 4; неосил GP- 4; пиридоксина гидрохлорид- 0,058 и тиамин гидрохлорид- 0,045 (для нормального роста и развития бактерий в кишечнике человека).

Проведены исследования показателей качества и безопасности.

Содержание бифидобактерий составило 6 000 000 000, лактобактерий- 5 000 000 000 КОЕ/г.

Безопасность разработанного продукта соответствует требованиям ТР ТС 021/2011. Получены медицинские доказательства эффективности БАД в качестве общеукрепляющего и профилактического средства для поддержания физиологической флоры тонкого и толстого кишечника, предупреждения кишечных инфекций, нормализации процесса пищеварения и формирования иммунитета.

Пребиотиками в разработанном биокомплексе служат фибригам, лактулоза и бета-глюкан. Лактулоза в толстом кишечнике метаболизируется бактериями способными ее усваивать, а продукты бактериального метаболизма лактулозы обеспечивают направленность рН среды в кислую сторону, угнетая размножение патогенных микроорганизмов. Факторы роста - витамины В<sub>1</sub> и В<sub>6</sub> выполняют коферментные функции и необходимы для нормального развития бактериальной флоры в кишечнике человека.

Внедрение на предприятиях и компаниях Системы менеджмента по требованиям ISO 22000, 2001 и GMP гарантирует стабильность заданных показателей и конкурентоспособность.

### **Список литературы**

1. Позняковский, В.М. Эволюция питания и формирования нутриома современного человека // Индустрия питания – 2017 - № 3. – С. 5-12.
2. Черешнев, В.А. Фактор питания и эволюционно-генетическое формирование кишечной микрофлоры: значение для сохранения иммунитета и здоровья / В.А. Черешнев, В.М. Позняковский // Индустрия питания – 2020. - №3 (Т. 5). – С. 5-16.
3. Нутрициология и клиническая диетология: национальное руководство / под ред. В.А. Тутельяна, Д.Б. Никитюка. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 656 с.
4. Тохириён, Б. Биотехнологическая программа в форме БАД для поддержки индигенной микрофлоры кишечника / Б. Тохириён, А.А. Вековцев,

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**



О.Н. Булашко, Т.В. Котова, В.М. Позняковский // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2020. - №2 (Т. 8\_). – С. 65-73.

5. Вековцев, А.А. Новые масштабные биотехнологические проекты в метаболической коррекции дисфункциональных состояний и синдромов дезадаптации / А.А. Вековцев, Д.Б. Никитюк, В.М. Позняковский // Коллективная монография «Актуальные проблемы хранения и переработки сельскохозяйственного сырья». – Санкт-Петербург, изд-во «Лань», 2020. – С. 18-26.

6. Bulashko O.N. Scientific justification of the formula composition of biotechnological form of BAA with directed functional properties / O.N. Bulashko, T. V. Kotova, and V. M. Poznyakovsky // E 3S Web of Conferences 176, 04017 (2020) IDSISA 2020.

ВЕСНИНА А.Д., КОЗЛОВА О.В.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ РАЗРАБОТКИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ  
ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ АТЕРОСКЛЕРОЗА**

*Кемеровский государственный университет, г. Кемерово*

*e-mail: [koledockop1@mail.ru](mailto:koledockop1@mail.ru)*

VESNINA A.D., KOZLOVA O.V.

**METHODOLOGICAL PRINCIPLES FOR THE DEVELOPMENT OF  
FUNCTIONAL FOOD FOR THE PREVENTION OF ATHEROSCLEROSIS**

*Kemerovo State University, Kemerovo*

*e-mail: [koledockop1@mail.ru](mailto:koledockop1@mail.ru)*

**Аннотация:** Представленные в данной работе методологические принципы создания ФПП являются основой для разработки кисломолочных продуктов для профилактики атеросклероза. Систематическое употребление данных продуктов, содержащих в себе биологически активные вещества, проявляющие антиатеросклеротическое действие, является одним из эффективных профилактических мероприятий ССЗ.

**Abstract:** The methodological principles of FPP creation presented in this work are the basis for the development of fermented milk products for the prevention of atherosclerosis. The systematic use of these products containing biologically active substances exhibiting antiatherosclerotic action is one of the effective preventive measures for CVD.

**Ключевые слова:** атеросклероз, пребиотики, пробиотики, профилактический продукт.

**Keywords:** atherosclerosis, prebiotics, probiotics, preventive product.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

Питание – это фактор окружающей среды, постоянно воздействующий на организм человека и обеспечивающий его здоровое состояние. Среди заболеваний, связанных с неправильным питанием, особую роль играют сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), первопричиной которых является атеросклероз, хроническое воспалительное заболевание, связанное с нарушением липидного обмена и с образованием пенистых клеток на стенках аорты [1]. Следовательно, в приоритете профилактика атеросклеротических заболеваний, которая реализуется как через соблюдение специализированной кардиозащитной диеты, так и через систематическое употребление функциональных продуктов питания (ФПП).

Для того чтобы данные продукты были нацелены на предотвращение развития атеросклероза, они должны:

1. Содержать в себе вещества, проявляющие антиатеросклеротическое действие, то есть влияющие на метаболизм липидов и углеводов, регулирующие сердечно-сосудистую систему организма и воспалительные процессы, протекающие в нем.

2. Быть обезжиренными, с низким содержанием насыщенных жиров, с высоким содержанием полиненасыщенных жиров, белков высокой биологической ценности, макроэлементов и витаминов.

3. Оказывать положительное воздействие на функционирование микробиоты желудочно-кишечного тракта, регулирующей основные биологические процессы организма и кардиозащитное действие.

Перспективной основой для создания таких ФПП является молоко – сырье богатое различными биологически активными веществами (БАВ) и популярное среди потребителей.

**Цель данного исследования** заключается в формировании методологических принципов создания ФПП на молочной основе для профилактики атеросклероза.

**Материалы и методы исследования.** Для реализации поставленной цели был проведен обзор отечественной и зарубежной научной литературы, используя следующие базы данных: National Center for Biotechnology Information (NCBI), ScienceDirect, Scopus, онлайн библиотеку <https://elibrary.ru>, поисковую систему Федерального института промышленной собственности и Международной патентной системы – Patentscope (WIPO).

**Результаты исследования и их обсуждение.** Результаты проведенного обзора позволили составить методологические принципы создания ФПП для профилактики атеросклероза, рисунок 1.

Данные принципы состоят из двух основных этапов: первый этап включает в себя все то, что связано с разработкой рецептуры и технологиями получения ФПП, второй этап включает все процессы, связанные с анализом готовых

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

## Секция 2. Разработка и стандартизация БАД и функционального питания на основе пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков и метабиотиков

продуктов. Важно уделять внимание исследованиям эффективности употребления ФПП, то есть реальной пользе, наличию антиатеросклерозного действия на доклинических этапах, например, с помощью анализа *in vitro* – за счет изучения антиатерогенного действия разработанных ФПП на первичной культуре клеток аорты человека и т.п. [2].

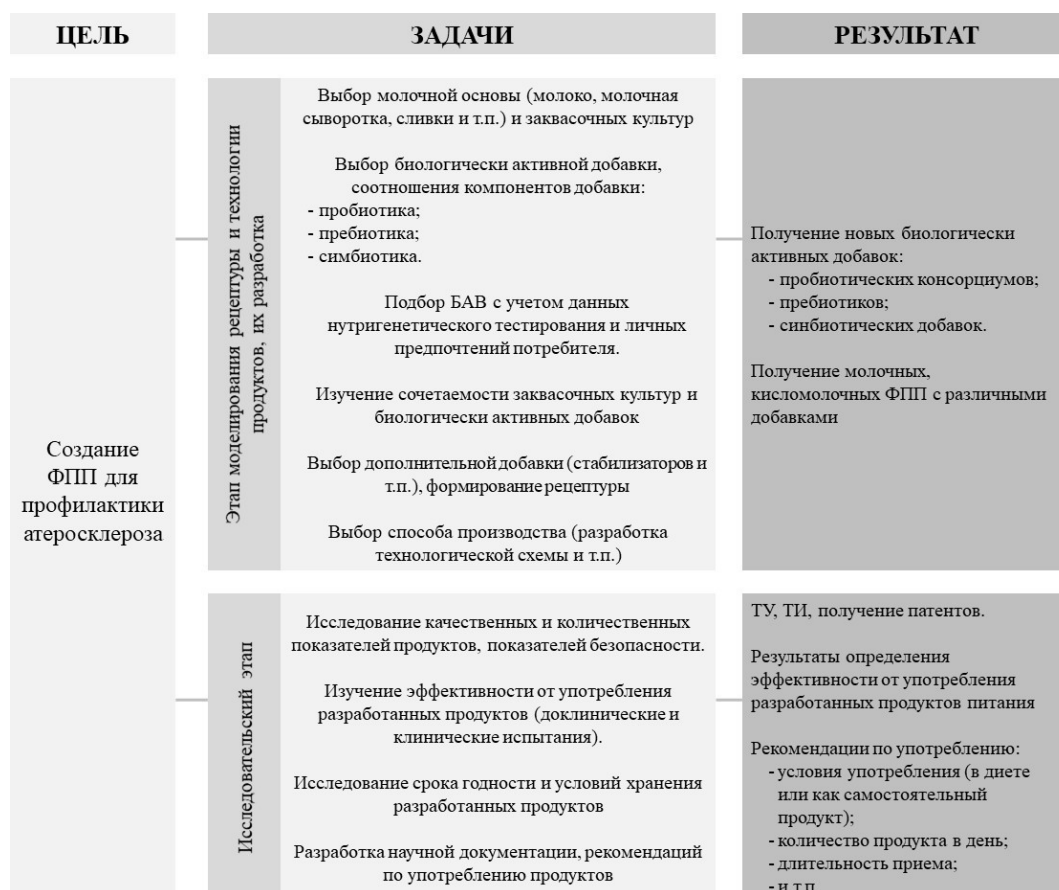


Рисунок 1 – Методологические принципы создания ФПП для профилактики атеросклероза

В связи с современным уровнем развития науки и техники важно сообщить о роли персонафицированного подхода в области формирования индивидуальных профилактических ФПП. Такой персональный подход необходимо включить в первый этап методологических принципов, где формируется рецептура продуктов. Особенность подхода состоит в том, что подбор БАВ, вводимых в продукт, осуществляется на основании нутригенетического тестирования (изучения наличия олигонуклеотидных полиморфизмов – SNP, влияющих на метаболизм определенного нутриента), с учетом личных пищевых предпочтений потребителя (можно выбрать вид продукта, его органолептические характеристики), и с учетом состояния

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

здоровья потребителя и т.п. То есть готовый продукт будет сформирован не на основании общих, универсальных рекомендаций, а на основании персонализированного подхода, учитывающего генетические и прочие особенности потребителя.

Проведенный обзор также позволил выделить следующий перечень кандидатов пробиотиков и пребиотиков, обладающих противоатеросклерозным действием [4, 5]. Среди пробиотических культур, выделяют:

- лактобактерии (*L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. fermentum*, *L. coryniformis*, *L. gasseri*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. helveticus*, *L. rhamnosus*);
- пропионовокислые бактерии (*Propionibacterium shermanii*);
- дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*); энтерококки (*Enterococcus durans*, *Enterococcus hirae*);
- бифидобактерии (*B. lactis*, *B. breve*, *B. longum*);
- другие микроорганизмы (*Akkermansia muciniphila*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophiles*).

Среди пребиотиков с противоатеросклерозной активностью выделяют [3]:

- сахара (инулин, маннан);
- витамины (группы В, витамины Е, С, А, К, D);
- алкалоиды (берберин и т.д.);
- полифенолы (ресвератрол, кофеиновая и розмариновая кислота, кверцетин, куркумин);
- пигменты (ликопин и т.д.);
- полиненасыщенные жирные кислоты (омега-3 и омега-6).

Выше представленные добавки можно использовать в качестве биоактивных компонентов в ФПП, но с учетом того, что их добавление будет способствовать реальной профилактике атеросклероза, что можно узнать после доклинических и клинических испытаний, и не окажет негативного влияния на органолептические показатели готового продукта.

**Выводы.** Учитывая, что в настоящее время во всем мире ССЗ занимают лидирующие позиции по основным причинам смертности населения, то разработка и усовершенствование профилактических средств является перспективным направлением здравоохранения. И так как соблюдение правильного питания – ключ к оздоровлению организма, то обогащение рациона ФПП, содержащими в своем составе ряд БАВ, необходимых для организма потребителя, также является приоритетным направлением. Разработанные методологические принципы, представленные в данной работе, способствуют разработке новых ФПП с кардиопротекторной активностью, что также остается актуальным направлением в области пищевой промышленности.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

### Список литературы

1. Роль оптимального питания в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний / Н.С. Сметнева, А.В. Погожева, Ю.Л. Васильев и др. // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89. – № 3. – С. 114–124. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10035.
2. Cellular models of atherosclerosis and their implication for testing natural substances with anti-atherosclerotic potential / A.N. Orekhov, E.A. Ivanova // Phytomedicine. – 2016. – V. 23. – № 11. – P. 1190–1197 <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.01.003>.
3. Olas, B. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics-A Promising Strategy in Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases? // International journal of molecular sciences. – 2020. – № 21 (24). – 9737. <https://doi.org/10.3390/ijms21249737>.
4. Pat. CN111418653, IPC A23C9/13. Fermented milk, and preparation method and application thereof / J. Chen, L. Hu, C. Zheng, L. Duan, X. Huang, Y. Ji, C. Cai; applicant SUNGEN BIOSCIENCE CO LTD. – № 202010172930.0; stated 12.03.2020; published 17.07.2020.
5. Screening and characterization of lactic acid bacterial strains that produce fermented milk and reduce cholesterol levels / X. Guan, Q. Xu, Y. Zheng [et al.] // Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]. – 2017. – № 48 (4). – P. 730–739. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.011>.



КАМЗОЛОВА С.В., САМОЙЛЕНКО В.А.,  
ЛУНИНА Ю.Н., МОРГУНОВ И.Г.

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ФОРМЫ  
ИЗОЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ОТХОДОВ СПИРТОВЫХ  
ПРОИЗВОДСТВ С ПОМОЩЬЮ ДРОЖЖЕЙ *YARROWIA LIPOLYTICA***

ФИЦ "Пушчинский научный центр биологических исследований РАН",  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, г.  
Пушино

e-mail: [kamzolova@rambler.ru](mailto:kamzolova@rambler.ru)

KAMZOLOVA S.V., SAMOILENKO V.A.,  
LUNINA J.N., MORGUNOV I.G.

**METHOD FOR PRODUCTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE FORM OF  
ISOCITRIC ACID FROM WASTE OF ALCOHOLIC PRODUCTIONS  
USING *YARROWIA LIPOLYTICA* YEAST**

*Federal Research Center «Pushchino Scientific Center for Biological Research of the  
Russian Academy of Sciences», G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and  
Physiology of Microorganisms of the Russian Academy of Sciences,  
Pushchino*

e-mail: [kamzolova@rambler.ru](mailto:kamzolova@rambler.ru)

**Аннотация:** В данной работе впервые показана возможность использования отхода спиртового производства (эфиро-альдегидная фракция) для получения изолимонной кислоты с помощью дрожжевых организмов. В результате скрининга различных видов дрожжевых культур отобран штамм *Yarrowia lipolytica* ВКМ Y-2373 – продуцент изолимонной кислоты из эфиро-альдегидной фракции. В оптимизированных условиях продуцент за 4 суток синтезировал 65 г/л изолимонной кислоты с выходом продукта ( $Y_{ИЛК}$ ) (0.65 г/г).

**Abstract:** In this work, the possibility of alcohol production waste (ether-aldehyde fraction) for the production of isocitric acid using yeast strains was shown. As a result of screening, the *Yarrowia lipolytica* VKM Y-2373 strain, a producer of isocitric acid from the ester-aldehyde fraction was selected. Under optimized conditions, at 4 days the producer synthesized 65 g/L of isocitric acid with a product yield ( $Y_{ICA}$ ) (0.65 g/g).

**Ключевые слова:** микробный синтез; изолимонная кислота; дрожжи *Yarrowia lipolytica*; отходы спиртового производства; эфиро-альдегидная фракция; оптимизация

**Keywords:** microbial synthesis; isocitric acid; yeast *Yarrowia lipolytica*; alcohol production waste; ether-aldehyde fraction; optimization

**Цель исследования.** Целью данной работы являлось изучение возможности образования трео-D<sub>5</sub>-изолимонной кислоты (ИЛК) из эфира альдегидной фракции (ЭАФ) у дрожжевых организмов и отбор продуцента.

**Материалы и методы исследования.** С целью отбора продуцента ИЛК культивирование дрожжей проводили при 29 °С на качалке (130 об./мин) в больших пробирках (длина 20 см, диаметр 2 см) с 5 мл среды Ридер с уменьшенным в 10 раз содержанием сульфата аммония (г/л): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0.3; MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O – 0.7; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4 H<sub>2</sub>O – 0.4; NaCl – 0.5 г; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1.0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0.2, дрожжевой экстракт “Difco” – 0.5. В среду дополнительно вносили смесь микроэлементов Буркгольдера следующего состава (мг/л): KJ – 0.1, B<sup>3+</sup> – 0.01, Mn<sup>2+</sup> – 0.01, Zn<sup>2+</sup> – 0.01, Cu<sup>2+</sup> – 0.01, Mo<sup>2+</sup> – 0.01, Fe<sup>2+</sup> – 0.05. ЭАФ вносили дискретно (по 2 г/л) в конечной концентрации 20 г/л. Культивирование штаммов проводили 4 суток.

При изучении динамики роста продуцента *Y. lipolytica* VKM Y-2373 и кислотообразования культивирование проводили в 10-ти л ферментере АНКУМ-2М (СКБ, Россия, Пущино) с рабочим объемом 5 л при 29 °С, концентрация растворенного кислорода 55-60% (от насыщения), рН 6 на среде Ридер. ЭАФ вносили дискретно – по 10 - 60 мл/л в момент повышения концентрации растворенного кислорода на 10% в сравнении со стабильным уровнем насыщения кислорода. Культивирование проводили 4 суток.

**Результаты работы и их обсуждение.** В течение двух последних десятилетий ИЛК привлекает внимание исследователей как перспективное соединение для фармацевтической и пищевой промышленности. ИЛК, полученная микробным синтезом, по своему антиоксидантному действию превосходит классический антиоксидант – аскорбиновую кислоту [4]. ИЛК положительно влияет на пространственный компонент памяти у животных как интактных, так и подвергнутых влиянию солей тяжёлых металлов. Она противодействует многократным попыткам животных воспользоваться ранее приобретёнными реакциями, ставшими неадекватными в пространственно-изменённых условиях, и способствует усвоению новых навыков, соответствующих новым пространственным условиям [5].

Несмотря на выявленные положительные эффекты, ИЛК редко используется из-за сложности ее получения. В результате химического синтеза получается смесь из четырех стереоизмеров ИЛК: threo-DS-, threo-Ls-, erythro-Ds- и erythro-Ls-, из которых только один изомер - трео-D<sub>5</sub>- или (2R,3S)-изолимонная кислота (согласно IUPAC Organic Nomenclature) (условно названный ИЛК) является метаболитом Цикла трикарбоновых кислот, присущего большинству живых организмов. На настоящий момент технологии разделить стереоизмеры не существует, поэтому химический синтез не пригоден для получения продукта фармакопейной квалификации. Существует способ получения природной ИЛК с



использованием специально культивируемых растений *Sedum spectabile*. Однако цена на полученный таким образом продукт слишком высока (750 \$ за 1 грамм калиевой соли ИЛК).

Альтернативой химическому синтезу и получению из растений является способ получения ИЛК с помощью дрожжей *Yarrowia lipolytica* [1,2]. Показано, что представители данного вида непатогенны и имеют статус GRASS (generally regarded as safe). Микробиологический синтез ИЛК позволяет получать исключительно природный изомер, является сравнительно быстрым и простым способом, что снижает себестоимость ИЛК и делает продукт доступным и рентабельным для широкого применения.

В настоящее время актуальной задачей является расширение арсенала источников углерода для повышения продукции органических кислот, и в том числе ИЛК, и снижения себестоимости продукта. Одним из перспективных субстратов для разработки процесса получения ИЛК с помощью *Y. lipolytica* могут стать отходы спиртовых производств, такие как эфиральдегидная фракция (ЭАФ). Этот отход из-за наличия примесей эфира и альдегидов является трудноутилизируемым побочным продуктом; не находит широкого применения в органическом синтезе. В тоже время основной компонент ЭАФ – этиловый спирт усваивается дрожжами *Y. lipolytica* и является прекрасным субстратом для биосинтеза ИЛК [3]. До сих пор этот субстрат не исследовался.

В данной работе впервые показана возможность использования ЭАФ для получения ИЛК с помощью дрожжевых организмов. Было обнаружено, что большинство исследуемых штаммов (26 из 35) обладали способностью экскретировать ИЛК (0.06 – 5.51 г/г сухих клеток) при росте на ЭАФ в условиях дефицита азота. Однако количество ИЛК у исследуемых дрожжей было различно: 8 штаммов синтезировали ИЛК в количестве до 0.1 г/г клеток, 8 штаммов – от 0.1 до 0.5 г/г клеток, 2 штамма – от 0.5 до 1 г/л; 3 штамма - от 1 до 2 г/л; 2 штамма - от 2 до 3 г/л и 3 культуры – природный штамм *Y. lipolytica* VKM Y-2373, мутантный штамм *Y. lipolytica* УФ/ННГ и рекомбинантный штамм *Y. lipolytica* АСО1 с суперэкспрессией аконитат-гидратазы обладали максимальной эффективностью биосинтеза ИЛК (5.51; 4.61 и 3.73 г/г клеток, соответственно). Наряду с ИЛК в условиях лимитирования роста клеток азотом накапливались другие интермедиаты метаболизма ЭАФ и ЦТК – уксусная кислота, лимонная кислота (ЛК),  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота, янтарная кислота, яблочная кислота и фумаровая кислота. Большая часть штаммов, относящихся к виду *Y. lipolytica*, синтезируют преимущественно ИЛК (32.3 – 53.5% от общего количества кислот), в качестве побочного продукта накапливается ЛК. Следует отметить, что мутантный штамм *Y. lipolytica* УФ/ННГ и рекомбинантный штамм *Y. lipolytica* АСО1 (№ 20) характеризовались сниженной долей ИЛК в общем пуле

экскретируемых кислот (44.6 и 45.3%, соответственно) по сравнению с природным штаммом *Y. lipolytica* ВКМ Y-2373 (53.5%).

Природный штамм *Y. lipolytica* ВКМ Y-2373 с максимальным накоплением кислоты (5.51 г/г клеток и 53.5% от суммы кислот) был отобран для дальнейшей работы в ферментере.

Как видно из рисунка 1, на кривой роста можно четко различить экспоненциальную фазу (до 12 ч), фазу замедленного роста (с 12 до 24 ч), имеющую линейный характер, и стационарную фазу. Максимальная удельная скорость роста продуцента ( $\mu_{max}$ ) составляет  $0.282 \text{ ч}^{-1}$  на 6 ч. Экскреция ИЛК и ЛК начиналась в момент перехода культуры от экспоненциального роста к замедленному росту. В поздней фазе замедленного роста и стационарной фазе продуцент продолжал активно синтезировать ИЛК и ЛК. На конце культивирования в среде накапливается 65.0 г/л ИЛК и 31.2 г/л ЛК; соотношение ИЛК/ЛК составляет 2.1:1; максимальная производительность синтеза ИЛК ( $Q_{ИЛК}$ ) (0.95 г ИЛК/л·ч) и выход продукта ( $Y_{ИЛК}$ ) (0.65 г/г). В то же время этот штамм на очищенном этаноле синтезировал 90.5 г/л ИЛК с выходом продукта ( $Y_{ИЛК}$ ) 0.77 г/г [3], а в режиме отъемов-доливов эти показатели были еще выше – 109.6 г/л и 0.80 г/г, соответственно [5]. Вероятно, сниженная биосинтетическая активность *Y. lipolytica* ВКМ Y-2373 в среде с ЭАФ связана с наличием вредных примесей (альдегидов, эфиров, метилового спирта).

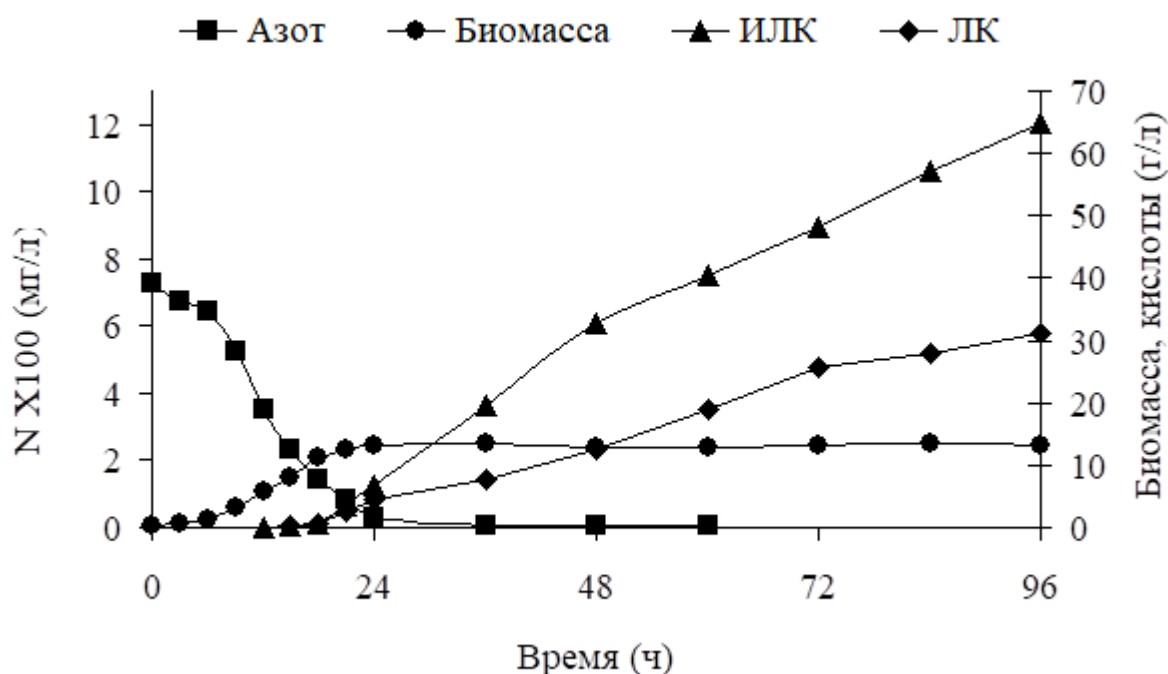


Рис. 1. Динамика роста дрожжей *Y. lipolytica* ВКМ Y-2373 и биосинтеза ИЛК в условиях дефицита азота в среде с ЭАФ.

**Выводы.** Проведенные исследования показали возможность использования отходов спиртовых производств в качестве источника углерода и энергии для получения ИЛК с помощью дрожжей *Y. lipolytica*.

### Список литературы

1. Камзолова С.В., Самойленко В.А., Моргунов И.Г. Разработка биотехнологий получения изолимонной кислоты с помощью дрожжей *Yarrowia lipolytica* // Медико-биологические и нутрициологические аспекты здоровьесберегающих технологий : материалы I Международной научно-практической конференции (Кемерово, 27 ноября 2020 г.) / отв. ред. В.М. Позняковский, Е.М. Мальцева. – ISBN 978-5-8151-0242-2. - Кемерово: КемГМУ, 2020. – С. 52-57.
2. Kamzolova S.V., Morgunov I.G. Microbial production of (2R,3S)-isocitric acid: state of the arts and prospects (Review) // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2019. – V. 103(23-24). - P. 9321-9333.
3. Kamzolova S.V., Shamin R.V., Stepanova N.N., Morgunov G.I., Lunina J.N., Allayarov R.K., Samoilenko V.A., Morgunov I.G. Fermentation conditions and media optimization for isocitric acid production from ethanol by *Yarrowia lipolytica* // Biomed Research International. – 2018. - Article ID 2543210 | <https://doi.org/10.1155/2018/2543210>
4. Morgunov I.G., Karpukhina O.V., Kamzolova S.V., Samoilenko V.A., Inozemtsev A.N. Investigation of the effect of biologically active threo-Ds-isocitric acid on oxidative stress in *Paramecium caudatum* // Preparative Bi-ochemistry and Biotechnology. – 2018. – V. 48(1). – P. 1-5.
5. Morgunov I.G., Kamzolova S.V., Karpukhina O.V., Bokieva S.V., Inozemtsev A.N. Biosynthesis of isocitric acid in repeated-batch culture and testing of its stress-protective activity // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2019. -V. 103(8). - P. 3549-3558.

КОТОВА Т. В., ВАЛЬНЮКОВА А. С.  
**КОРРЕКЦИЯ КАЛЬЦИЯ В МОЛОКЕ КОРОВЬЕМ**

*Кемеровский государственный медицинский университет, г. Кемерово*  
*e-mail: [t\\_kotova@inbox.ru](mailto:t_kotova@inbox.ru); [nastya711@bk.ru](mailto:nastya711@bk.ru)*

KOTOVA T. V., VAL'NYUKOVA A. S.  
**CORRECTION OF CALCIUM IN MILK BY COW**

*Kemerovo State Medical University, Kemerovo*  
*e-mail: [t\\_kotova@inbox.ru](mailto:t_kotova@inbox.ru); [nastya711@bk.ru](mailto:nastya711@bk.ru)*

**Аннотация:** В статье рассматривается возможность приблизить по содержанию кальция коровье молоко к женскому. Коррекцию проводили методом микрофльтрации с применением полистиролового катионита «Эспатит КУ-2-8». Содержание кальция удалось снизить  $\approx$  на 25 %.

**Abstract:** The article discusses the possibility of bringing cow's milk closer to female milk in terms of calcium content. The correction was carried out by the method of microfiltration using the "Espatit KU-2-8" polystyrene cation exchanger. Calcium content was reduced by  $\approx$  25%.

**Ключевые слова:** коровье, женское молоко; адаптация; катионит.

**Keywords:** cow, human milk; adaptation; cation exchanger.

Для детей первого года жизни материнское молоко является полноценной пищей, полностью удовлетворяет формирующийся и растущий организм во всех питательных веществах. Минеральная составляющая грудного молока содержится в легкоусвояемой форме, что обеспечивает высокий процент всасывания. К сожалению, достаточно часто детей переводят на искусственное питание в силу различных обстоятельств, что в дальнейшем вызывает развитие заболеваний, особенно опорно-двигательного аппарата. Это связано с переизбытком или недостатком кальция в адаптированном молоке (смесях) [2].

Самым распространенным видом сырья для производства детских молочных продуктов является молоко коровье, которое по содержанию микроэлементов значительно превышает грудное женское и для его использования в качестве замены требуется коррекция по содержанию микроэлементов, в частности кальция.

При адаптации коровьего молока к женскому необходимо соблюдать следующие принципы:

- исчерпывающая безвредность;
- максимальное алиментарное соответствие женскому молоку по макро- и микропитательным компонентам;
- максимальное макро-, микро- и наноструктурное и агрегативное

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

соответствие органических и минералоорганических веществ аналогичным веществам женского молока;

– максимальное метаболическое соответствие женскому молоку [2].

**Цель исследования** – приблизить коровье молоко к молоку женскому по содержанию кальция.

Задачи исследования:

- изучить химический состав молока коровьего и женского;
- провести сравнительный анализ минеральной части;
- провести коррекцию коровьего молока по кальцию с его последующей проверкой на остаточное содержание.

К сожалению, состав женского молока изучен еще недостаточно по сравнению с молоком коровьим и его изменение в течение лактации весьма значительно и зависит от режима питания матери. Состав коровьего молока также зависит от питания, от продолжительности светового дня, времени года, содержания животных и многих других факторов (табл. 1).

Таблица 1 – Состав женского и коровьего молока по минеральным веществам

Показатель, мг%	Женское молоко [1]	Коровье молоко [3]
кальций	25-34	120
калий	50	146
натрий	15	50
фосфор	15	92
магний	2,8	14
хлор	43	110
железо	0,2-0,8	0,067
медь	0,045	0,012
марганец	0,004	0,006

В зависимости от содержания белков женское молоко относится к группе альбуминового молока, коровье – к группе казеинового. В коровьем молоке преобладают тугоплавкие жиры и насыщенные жирные кислоты над легкоусвояемыми ненасыщенными кислотами. Женское молоко содержит больше лактозы (более 6,0 %) и около 1,0 % других более сложных олигосахаридов. Минеральных веществ в женском молоке в 3-4 раза меньше, чем в коровьем. Однако оно богаче коровьего железом и медью.

Большое внимание при разработке и производстве продуктов детского питания уделяется корректировке минерального состава. Рекомендации ФАО/ВОЗ ООН и комитетов по питанию госучреждений развитых зарубежных стран по составу детского адаптированного молока, мг/100 см<sup>3</sup>:

- Комитет по питанию стран Скандинавии – > 60;

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

- Комитет по питанию Академии Педиатрии США – > 60;
- Кодекс Алиментарис Комиссии по сельскому хозяйству и продовольствию ВОЗ – > 50;
- Комитет по детскому питанию, Испания – > 50.

При этом следует учитывать, что по заключению самих экспертов по питанию рекомендации FAO/ВОЗ не рассматриваются в качестве обязательных, а даются лишь как ориентировочные.

**Материалы и методы исследования.** Предварительно изучили состав коровьего и женского молока по кальцию. А также определили содержание кальция в цельном молоке, полученном в крестьянском фермерском хозяйстве Баранова Александра Юрьевича (в период ноябрь-декабрь прошлого года).

Исследование проводили методом микрофильтрации. Использовали полистироловый катионит «Эспатит КУ-2-8».

Этапы подготовки катионита:

1. Обработка в воде;
2. Обработка 1 н раствором NaCl (KCl);
3. Промывка водой от избытка хлорид-ионов (скорость промывки 5 мм/мин) и проверка их отсутствия с помощью AgNO<sub>3</sub>;
4. Стерилизация катионита путем подачи в колонку острого пара ( $\tau = 20$  мин). Во избежание потери способности ионному обмену катионита в колонку подавали воду так, чтобы катионит находился под слоем воды в 2 см.

После приступали к фильтрации исследуемого молока через подготовленный катионит. Первоначально пропускали слой воды, затем подавали молоко, сохраняя слой молока под катионитом 2 см. Чтобы избежать разбавления молока водой, первые порции не сохраняли. По истечении 5 минут молоко собирали. На протяжении всего процесса следили, чтобы уровень молока над катионитом не менялся [4, 5].

Испытания проводили в 5-ти кратной последовательности.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Для того, чтобы перевести катионит в натриевую или калиевую форму его обрабатывали 1 н раствором NaCl или KCl:



Затем в образцах молока от крестьянского фермерского хозяйства определяли содержание кальция. Этот показатель составил 110 мг%, что на 8 % меньше литературных данных. После обработки катионитами молоко подвергали химическим анализам.

Для установления полноты ионнообменной реакции между ионами кальция молока и ионами калия (натрия) катионита, проводили титрование образцов раствором трилона Б первоначально нативного, затем обработанного молока в присутствии буфера и индикатора мурексида.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием



В результате в адаптированном молоке содержание ионов кальция составило 82,5 мг%, что  $\approx$  на 25 % меньше, чем в цельном (рис. 1).

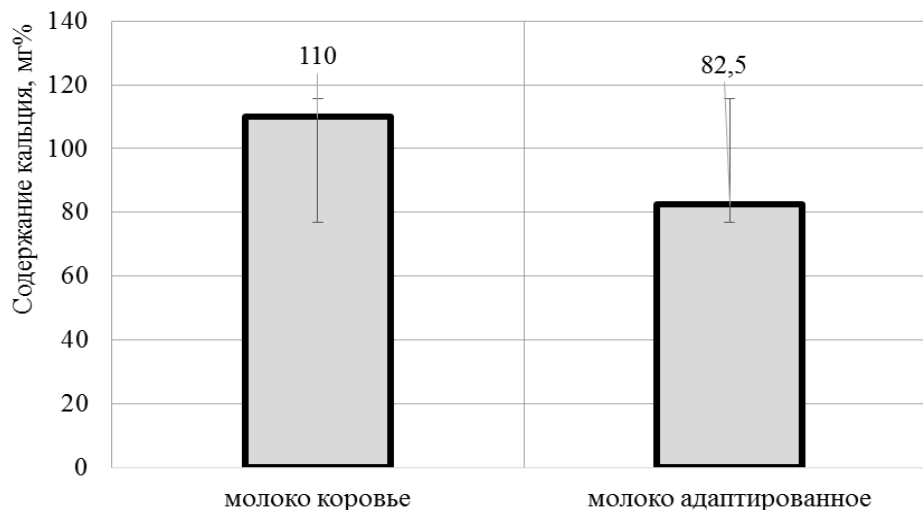


Рисунок 1 – Содержание кальция в молоке коровьем и адаптированном

**Выводы.** Методом обработки исследуемого молока катионитом «Эспатит КУ-2-8» удалось снизить в нативных образцах сырья содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , тем самым приблизив коровье молоко к женскому.

### Список литературы

1. Каримова, Ш. Ф. Успехи современного естествознания. / Ш. Ф. Каримова, Н. М. Юлдашев, Г. О. Исмаилова, М. К. Нишантаев // Биохимия молока. – 2015. – № 9-3. – С. 422-428.

2. Ковалёва, Ф. Ф. Анализ содержания кальция в грудном молоке и его заменителях как программирование здоровья ребенка / Ф. Ф. Ковалёва, А. Р. Сайфутдинова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2019. – № 6. – С. 6-10.

3. Химический состав российских пищевых продуктов. Под редакцией член-корр. МАИ, проф. И. М. Скурихина и академика РАМН, проф. В. А. Тутельяна. – М.: ДеЛи принт, 2002. – 237 с.

4. Masotti Fabio. Analytical advances in the determination of calcium in bovine milk, dairy products and milk-based infant formulas / Fabio Masotti, Stefano Cattaneo, Milda Stuknyt, Valentina Pica, Ivano De Noni // Trends in Food Science & Technology. – 2020. – V.103. – pp. 348-360.

5. Reitmaier Michael. Effect of changes in ionic composition induced by different diafiltration media on deposited layer properties and separation efficiency in milk protein fractionation by microfiltration / Michael Reitmaier, Inez Bachmann, Hans-Jürgen Heidebrecht, Ulrich Kulozik // International Dairy Journal. – 2021. – V. 120. – pp. 105089.

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием



РАДКЕВИЧ А.В., ПОПОВА О.С.  
**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ  
АДСОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ СОРБЕНТОВ**

*ФГБОУ ВО СПбГУВМ, г. Санкт-Петербург  
e-mail: [alef\\_z@mail.ru](mailto:alef_z@mail.ru)*

A.V. RADKEVICH, POPOVA O.S.  
**SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR STUDYING THE ADSORPTION  
PROPERTIES OF SORBENTS**

*FGBOU VO SPbGUVM, Saint Petersburg  
e-mail: [alef\\_z@mail.ru](mailto:alef_z@mail.ru)*

**Аннотация.** В статье рассмотрены аспекты исследования такой фармакологической характеристики сорбентов, как адсорбционная активность, методом спектрофотометрии. Приведена теоретическая информация об основах спектрофотометрического метода, а также результаты собственных исследований растворов цианокобаламина методом спектрофотометрии в ультрафиолетовом диапазоне.

**Abstract.** The article discusses aspects of the study of such pharmacological characteristics of sorbents as adsorption activity by spectrophotometry. Theoretical information on the foundations of the spectrophotometric method is presented, as well as the results of our own studies of cyanocobalamin solutions by spectrophotometry in the ultraviolet range.

**Ключевые слова:** сорбенты, адсорбционная активность, спектрофотометрия, цианокобаламин

**Keywords:** sorbents, adsorption activity, spectrophotometry, cyanocobalamin

**Цель исследования.** Спектрофотометрический анализ используется для изучения оптической плотности растворов. С помощью вычислений с этим показателем можно находить, в первую очередь, количественное содержание определённых компонентов раствора. Так, при различных длинах волн определяют количество белков, красителя, спиртов. Принцип метода заключается в сравнении оптических плотностей “нулевого” буфера или растворителя с раствором вещества-аналита.

В ходе эксперимента была подтверждена достоверность спектрофотометрического метода в исследовании концентрации вещества в растворе. Была доказана прямая линейная зависимость оптической плотности от концентрации.

**Материалы и методы исследования.** При разработке новых активных фармацевтических субстанций необходим тщательный контроль и многократное

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

исследование их на разных стадиях изготовления и по разным параметрам. На кафедре фармакологии и токсикологии СПбГУВМ ведётся разработка и улучшение технологии и рецептуры энтеросорбентов на основе перлита, вермикулита и полифепана, а также рассматриваются варианты его усовершенствования различными фитодобавками, например, “Сангровит”. Особенность энтеросорбентов как лекарственных препаратов в том, что они проходят через желудочно-кишечный тракт с минимальными конформациями и выходят практически в неизменном виде. Именно поэтому важно выбирать вещества, имеющие большую сорбционную поверхность и обладающие низкой степенью взаимодействия как с другими веществами, так и с тканями организма. Входящий в состав исследуемого сорбента перлит химически инертен и не изменяет рН воды, а также является адсорбентом для различных красителей, масел и других веществ. Вермикулит также химически инертен, обладает высокой поглощающей способностью относительно воды и является асептическим материалом. Полифепан (Лигнин) добавляется как источник непереваримой клетчатки.

Очевидно, что помимо разработки фармтехнологии, изучения свойств отдельных компонентов и их безопасности для здоровья животных, необходимо также исследовать эффективность итогового препарата относительно различных вероятных токсинов, в том числе для понимания области применения лекарственного средства и изучения механизма его действия, фармакодинамики и фармакокинетики. Для исследования адсорбционной способности сорбента относительно молекул среднего размера используют раствор витамина В<sub>12</sub> (цианокобаламина). Молекулярная масса этого кофермента составляет 1355 г/моль, то есть он занимает промежуточное положение между низкомолекулярными веществами, такими как мочевины, и веществами с высокой молекулярной массой, как белки. Цианокобаламин обладает высокой биологической активностью и сложной структурой, имеет в своём составе атом кобальта и цианогруппу, при этом он не образуется тканями животного организма. Исследование оптической плотности растворов цианокобаламина проводят при длине волны 360 нм.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Достоверность метода можно подтвердить непосредственным измерением оптической плотности у растворов с различной концентрацией цианокобаламина. Были изготовлены разведения ампульного препарата В<sub>12</sub> (500 мкг/мл) в изотоническом растворе хлорида натрия (концентрация 0,9%) и получены растворы с концентрациями 50; 25; 12,5; 5 мкг/мл. После проведения спектрофотометрии при длине волны 360 нм были получены следующие значения оптической плотности:

Таблица 1. Оценка оптической плотности в зависимости от концентрации цианкобаламина

Концентрация, мкг/л цианкобаламина, мкг/мл	50	25	12,5	5
Оптическая плотность	0,740	0,357	0,177	0,051

На основе полученных значений можно построить график (рис.1), выражающий прямую линейную зависимость оптической плотности от концентрации В12 в растворах:

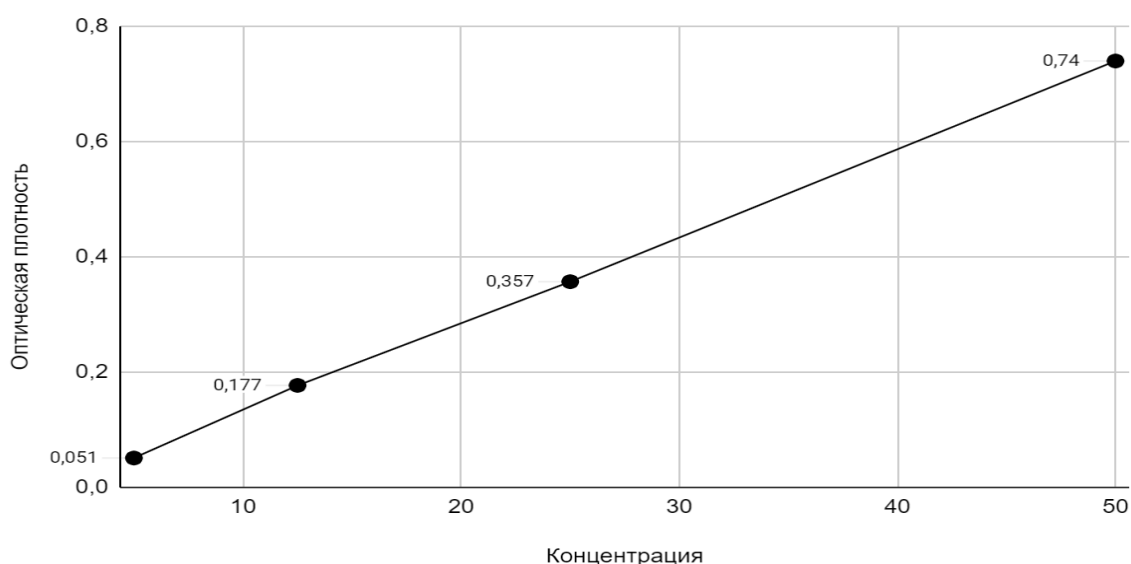


Рис.1. График зависимости оптической плотности от концентрации

Так, можно с уверенностью сказать, что изменение концентрации препарата в растворе будет отражено напрямую на значении оптической плотности, и при необходимости с помощью соответствующих формул можно пересчитать неизвестную концентрацию исходя из результатов спектрофотометрии.

**Выводы.** Таким образом, спектрофотометрический анализ образцов растворов цианкобаламина различной концентрации до и после добавления сорбента и биологически активных добавок позволяет определить адсорбционную способность сорбента в отношении молекул среднего размера, что позволяет сделать вывод об области применения разрабатываемого препарата и дальнейших перспектив его улучшения. Нами были рассмотрены теоретические аспекты спектрофотометрии растворов с целью применения этого метода для изучения адсорбционной активности разрабатываемых сорбентов для

доработки фармакологической технологии их производства и последующего подбора наиболее эффективной терапевтической дозы. Также было выполнено исследование растворов цианокобаламина с различной концентрацией с целью подтверждения достоверности метода.

#### Список литературы

1. Конорев, М. Р. Клиническая фармакология энтеросорбентов нового поколения / М. Р. Конорев // Вестник фармации. – 2013. – № 4(62). – С. 79-85.
2. Маркелов Д.А., Ницак О.В., Геращенко И.И. Сравнительное изучение адсорбционной способности медицинских сорбентов. Химико-фармацевтический журнал. Том 42, №7, 2008.
- 3.ОФС.1.2.3.0021.15. Определение адсорбционной активности энтеросорбентов/ ГФ РФ XIV.-т.1.-С.1096-1099.
4. Барышев В.А. Повышение эффективности современных сорбентов / В. А. Барышев, О. С. Попова, А. В. Свиридова // Международный вестник ветеринарии. – 2017. – № 2. – С. 13-16.

<sup>1</sup>СИДОРОВА Н.А., <sup>2</sup>САВУШКИН А.И.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ СТЕПЕНИ ИММОБИЛИЗАЦИИ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *LACTOBACILLUS BREVIS* НА РАЗЛИЧНЫХ НОСИТЕЛЯХ

<sup>1</sup>Петрозаводский государственный университет, г. Петрозаводск

<sup>2</sup>ООО «МИКРОБИМ», г. Петрозаводск

e.mail: [fagafon@yandex.ru](mailto:fagafon@yandex.ru)

<sup>1</sup>SIDOROVA N.A., <sup>2</sup>SAVUSHKIN A.I.

#### RESULTS OF A COMPARATIVE STUDY OF THE DEGREE OF IMMOBILIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF *LACTOBACILLUS BREVIS* ON DIFFERENT MEDIA

<sup>1</sup>Petrozavodsk State University, Petrozavodsk

<sup>2</sup>LLC «MICROBIM», Petrozavodsk

e.mail: [fagafon@yandex.ru](mailto:fagafon@yandex.ru)

**Аннотация:** Для оптимизации технологии иммобилизации пробиотических бактерий выполнен сравнительный анализ эффективности использования различных носителей. В их присутствии количество жизнеспособных клеток изменяется от  $2.4 \times 10^3$  КОЕ/мл (в присутствии агара) до  $9.3 \times 10^8$  КОЕ/мл (в присутствии керамики и шунгитового вещества).

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

Иммобилизованные на целлюлозе и шунгите клетки сохраняют длительную пролиферативную функцию

**Abstract:** To optimize the technology of immobilization of probiotic bacteria, a comparative analysis of the efficiency of using various carriers was carried out. In their presence, the number of viable cells varies from  $2.4 \times 10^3$  CFU / ml (in the presence of agar) to  $9.3 \times 10^8$  CFU / ml (in the presence of ceramics and shungite matter). Cells immobilized on cellulose and shungite retain long-term proliferative function

**Ключевые слова:** биологическая активность, иммобилизация, лактобактерии, носитель, пробиотики

**Keywords:** biological activity, immobilization, lactobacilli, media, probiotics

Вопросам оптимизации технологии создания новых форм пробиотиков всегда уделялось большое внимание. Отчасти, это связано с поиском новых решений, обеспечивающих оптимальную физиологическую и биохимическую активность пробиотических микроорганизмов при их непосредственном использовании для нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта. Одним из лидеров среди пробиотиков по праву являются лактобактерии, которые обладают большим набором технологических свойств и входят в состав целого ряда известных пробиотических препаратов: монокомпонентных, поликомпонентных и комбинированных лактосодержащих. Широкое использование лактобактерий, как пробиотиков опосредовано быстрой адгезией к кишечному эпителию желудочно-кишечного тракта макроорганизма и активной регуляцией его функции в том числе контроль метаболизма углеводов, белков, липидов, нуклеиновых кислот и других соединений; участие в водно-солевом обмене и поддержании кислотности среды; обеспечением энергией эпителиальные клетки желудочно-кишечного тракта [Alvez, 2010]; антагонистической активностью по отношению к патогенной, условно-патогенной и гнилостной микрофлоре [Степанов, 2009]. Известна также иммуногенная роль лактобактерий и их способность к детоксикации токсичных субстратов и метаболитов [Ljungh, 2009].

Для оптимизации эффективности применения препаратов на основе пробиотических бактерий, связанной в том числе и с повышением устойчивости пробиотиков к агрессивным средовым факторам используются технологии иммобилизации как самих клеток, так и продуктов их метаболизма в виде ферментов и ряда других биологически значимых молекул. Иммобилизованные клетки механически закрепляются на носителе или погружаются в полупроницаемую мембранную систему, и становятся более толерантными к неблагоприятным факторам среды, спровоцированным динамикой рН, температуры, снижением концентрации питательных веществ или увеличением дозы токсичных продуктов клеточного метаболизма. Иммобилизованные клетки

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

стационарно удерживаются в процессе ферментации, их легко отделить от продуктов реакции и использовать повторно. При этом, носитель (матрица) может иметь вид зернистого материала, волокнистой структуры, пластинчатой поверхности, пленок или тканей, полых волокон, капсул и т. д.; большое значение имеет размер частиц носителя и отношение площади его поверхности к объему [Березин и др., 1987].

**Цель исследования** состояла в сравнительном изучении степени иммобилизации и биологической активности бактерий рода *Lactobacillus* на различных носителях.

**Материал и методы исследования.** В качестве носителей выбраны альгинат, агар, желатин, пектин, целлюлоза, диатомовая крошка, активированный уголь, биокерамика, модифицированные формы шунгитового вещества (МФШВ), а также PVP или поли-(N-винилпирролидон), который относится к синтетическим полимерам гамма-виниллактама N-аминомасляной кислоты, полученным гомополимеризацией водного раствора N-винилпирролидона при температуре 50-80°C под действием 0,05-2,5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в присутствии NH<sub>3</sub>. Выбор перечисленных носителей связан с тем, что они широко распространены, устойчивы к микробной деградации и органическим растворителям, доступны, биосовместимы и возобновляемы. В зависимости от заданных характеристик носителей, в лабораторных условиях выполнено моделирование процесса физической иммобилизации бактерий (без образования ковалентных связей). В период эксперимента исследовали объективные критерии изменения состояния микробных клеток: морфологические и культуральные (видимые изменения бактерий), кинетику роста, количество жизнеспособных клеток и динамику изменения кислотности культурального раствора. Для анализа влияния экспериментальных форм носителей, как перспективных агентов иммобилизации на биологическую активность микроорганизмов использовали природный штамм *Lactobacillus brevis* 1К.ЛВА с потенциальными пробиотическими свойствами, выделенный из накопительной культуры капустного рассола. Культивирование лактобактерий выполняли в стерильной колбе Эрленмейера объемом 250 мл, содержащей 50 мл питательной основы, 0.5 г носителя (исключение биокерамика – 15.0 г) и 1 мл микробной биомассы в концентрации 10<sup>9</sup> КОЕ/мл. Для перемешивания ингредиентов использовали шейкер серии S: S-3L.A20 с цифровой системой управления и орбитальным движением платформы при частоте вращения 110 об/мин. Кинетику роста бактерий оценивали в периодических условиях культивирования с использованием биореактора RTS-1С типа «Реверс-Спиннер» с программным обеспечением и функцией контроля роста микроорганизмов в режиме реального времени.



**Результаты исследования и их обсуждение.** Во всех вариантах опыта по иммобилизации, присутствие разных по составу, функциям и происхождению носителей не сказалось на морфологических свойствах лактобактерий. Результаты иммерсионной микроскопии подтвердили присутствие в реакционной смеси монобактерий, которые в большинстве случаев располагались одиночно или в небольших группах по 1-2 клетки, ассоциированных с фрагментами носителя. В результате выполненных работ определено количество жизнеспособных клеток бактерий после иммобилизации. Полученные значения изменялись от  $2.4 \times 10^3$  КОЕ/мл до  $9.3 \times 10^8$  КОЕ/мл. Максимальное количество жизнеспособных клеток отмечено для керамики и МФШВ, а минимальное – для агара. В случае с пектином и желатином, факт иммобилизации клеток на носители не был установлен. Необходимо отметить, что иммобилизованные на целлюлозе и МФШВ клетки *L. brevis* сохраняли пролиферативную функцию как непосредственно после иммобилизации, так и после длительного использования в процессе ферментации. Целлюлоза и модифицированное шунгитовое вещество с большим эффектом сорбции связывали токсичные метаболиты и обеспечивали увеличение скорости роста и конечный выход биомассы. Наибольший уровень метаболической активности, связанный с уменьшением кислотности реакционной смеси на 3.5 единицы установлен для лактобактерий, иммобилизованных с использованием шунгитового вещества. Полученные результаты согласуются с данными других авторов. Согласно исследованиям Ефременко Е.Н (2009), положительная динамика кинетических характеристик роста иммобилизованных клеток становится возможной благодаря носителю, способного выполнять функцию защитного барьера для иммобилизованных клеток, «экранируя» их от негативного воздействия метаболитов и препятствуя проникновению в матрицу.

**Выводы.** В результате выполненных исследований проведен сравнительный анализ морфофизиологического состояния иммобилизованных клеток *Lactobacillus brevis* в присутствии альгината, агара, желатина, пектина, целлюлозы, диатомовой крошки, активированного угля, биокерамики, PVP и модифицированных форм шунгитового вещества. Полученные данные имеют, как фундаментальный, так и прикладной аспекты, отражают свойства различных вариантов носителей для иммобилизации бактерий с пробиотическим потенциалом, а также продуктов клеточного метаболизма.

### Список литературы

1. Березин И. В., Клячко Н. Л., Левашев А. В., Мартинек К., Можаяев В. В., Хмельницкий Ю. Л. Иммобилизованные ферменты. М.: Высшая школа, 1987. 160 с.

2. Ефременко Е. Н. Автореф. дисс. докт. биол. Наук. Инст. биохим. физики им. Н.М. Эмануэля РАН, М. 2009. 53 с.
3. Степанов К. М. Идентификация и основные биологические свойства молочнокислых бактерий // Вестник КрасГАУ. 2009. № 9. С. 158 –161.
4. Alvez C.C. Comportamento da *E. coli* em queijo Minas Frescal elaborado com a utilização de *L. acidophilus* e acidificação direta com ácido láctico (Dissertação de Mestrado) // Universidade Federal Fluminense, Niterói. 2010. № 21 (11). P. 732-736.
5. Ljungh A., Wadstrom T. *Lactobacillus*. Molecular biology From Genomics to Probiotics // Causter Academic Press, UK. 2009. 205 p.

<sup>1</sup>ШКОЛЬНИКОВА М.Н., <sup>2</sup>АВЕРЬЯНОВА Е.В., <sup>2</sup>РОЖНОВ Е.Д.  
**К ВОПРОСУ ПОВЫШЕНИЯ БИОДОСТУПНОСТИ ФЛАВОНОИДОВ  
ОБЛЕПИХОВОГО ШРОТА**

<sup>1</sup>Уральский государственный экономический университет,  
г. Екатеринбург

<sup>2</sup>Бийский технологический институт, г. Бийск  
e-mail: [shkolnikova.m.n@mail.ru](mailto:shkolnikova.m.n@mail.ru)

<sup>1</sup>SHKOLNIKOVA M.N., <sup>2</sup>AVERYANOVA E.V., <sup>2</sup>ROZHNOV E.D.  
**ON THE QUESTION OF INCREASING THE BIOAVAILABILITY OF THE  
FLAVONOIDS OF THE SEA BUCKTHORN MEAL**

<sup>1</sup>Ural State University of Economics, Yekaterinburg

<sup>2</sup>Biysk Technological Institute, Biysk  
e-mail: [shkolnikova.m.n@mail.ru](mailto:shkolnikova.m.n@mail.ru)

**Аннотация:** Большая часть лекарственных препаратов в терапии хронической венозной недостаточности основана на флавоноидах растительного сырья, недостатком которых является ограниченная биодоступность. В работе рассмотрены эффективные и практически значимые физические методы ее повышения; обоснован дизайн *in vitro* и *in vivo* клинических исследований.

**Abstract:** Most of the drugs in the treatment of chronic venous insufficiency are based on flavonoids of plant raw materials, the disadvantage of which is limited bioavailability. Effective and practically significant physical methods of its increase are considered in the work; the design of *in vitro* and *in vivo* clinical trials is justified.

**Ключевые слова:** флавоноиды, фармсубстанция, терапевтическая эффективность, биодоступность.

**Keywords:** flavonoids, pharmaceutical substance, therapeutic efficacy, bioavailability.

Известно, что в настоящее время хронической венозной недостаточностью страдает от 35 % до 60 % людей трудоспособного возраста, а в возрасте старше 50 лет – хроническая венозная недостаточность наблюдается у 99 % населения. В Алтайском крае болезни системы кровообращения (в целом) диагностированы у 151,2 тыс. человек (или 64,6 человек на 1000 населения), а ежегодный прирост составляет 6-7 %. При этом важное место в лечении хронической венозной недостаточности занимает фармакотерапия, основанная на флебопротекторах – лекарственных препаратах, получаемых переработкой растительного сырья и/или химическим синтезом.

Флеботропная и вентонизирующая активность свойственна, в т.ч. флавоноидам плодового сырья. Однако основным недостатком флавоноидов является их ограниченная биодоступность, обусловленная низкой растворимостью в воде, высокой чувствительностью к изменению рН физиологической среды, низким коэффициентом переноса через слизистую оболочку кишечника ограниченной проницаемостью биологических мембран, предрасположенностью к быстрой метаболической трансформации и т. д. [1, 5].

На мировом рынке представлено более 100 наименований флебопротекторов, но в РФ разрешено к применению всего около 20 [4]. В то же время импортозамещение в биотехнологии и фармацевтической промышленности является благоприятной основой для разработки отечественных оригинальных фармсубстанций. По оценкам экспертов, российский рынок флебопротекторов демонстрирует устойчивую тенденцию к росту в среднем на 8-9 % в год. При этом наиболее перспективными являются препараты на основе растительных флавоноидов: «Флебавен» (МОФФ – диосмин+гесперидин), «Флебодиа» (диосмин), «Венарус» (диосмин+гесперидин) и другие, а изыскание новых веществ природного происхождения, обладающих фармакологической активностью, и всестороннее исследование их свойств является одной из актуальных задач фармацевтической отрасли. В приоритете при этом не только местное растительное сырье, но и крупнотоннажные отходы его переработки. В этой связи облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides L.*) представляет значительный и особый интерес для Алтайского края. Остающийся после переработки ягод облепиховый шрот (до 200 т/год) используется в основном как наполнитель для кормов, при получении драже и пробиотиков. В связи с этим научное обоснование и разработка способов получения фармсубстанций, обладающих высокой эффективностью и хорошей биодоступностью является актуальным и практически значимым. Что обусловило **цель настоящего исследования:**

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

научное обоснование флебопротектора из микронизированной очищенной флавоноидной фракции облепихового шрота.

**Материалы и методы.** Материалами исследования послужили научные данные, в том числе собственные, по составу и фармакологической активности флавоноидной фракции шрота облепихи крушиновидной. Методами аналитического исследования явились: тематический поиск данных в электронных базах *Medline, Embase, Scopus, Web of Science* и *e.library* без языковых ограничений, систематизация, анализ и обобщение.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Для повышения биодоступности флебопротекторов на основе флавоноидов используют ряд технологических приемов, в частности – физические, химические и физико-химические методы повышения растворимости. Наиболее эффективным из них является ультразвуковая микронизация, благодаря которой происходит увеличение поверхности соприкосновения частиц с водой, за счет чего абсорбция флавоноидов в желудочно-кишечном тракте достигает 60-65 %, поскольку размер частиц с 36,5 мкм (нативный компонент) уменьшается до 1,75 мкм. Кроме того, имеется информация, что ультразвуковая микронизация является единственной технологией, повышающей биодоступность ряда флавоноидов, в то время как другие приемы (например, гранулирование) не оказывают влияния на фармакологические свойства и клиническую эффективность: повышение растворимости путем измельчения приводит к усилению антиоксидантной активности, а также капилляропротекторного действия [4].

На сегодняшний день одним из лекарственных препаратов с экспериментально доказанной эффективностью – подавление лейкоцитарно-эндотелиальной реакции, защита венозных клапанов, а также нормализация уровня простагландина (ПГ) E2 – является «Детралекс» (ООО СЕРВЬЕ РУС, Россия), представляющий собой микронизированную очищенную флавоноидную фракцию (МОФФ). Кроме стандартизованного количества диосмина и гесперидина, в состав МОФФ входят и другие флавоноиды: изороифолин, линарин, однако их количество не имеет самостоятельного фармакологического значения [4].

Ранее проведенными исследованиями авторами показано, что шрот облепихи содержит значимое количество флавоноидов, обладающих широким спектром доказанной *in silico, in vitro* и *in vivo* фармакологической активности: антиоксидантная, противовирусная, антибактериальная, противовоспалительная и др. при отсутствии токсичности и являющихся потенциальными источниками фармацевтических субстанций. Прогнозируемая биологическая активность флавоноидов облепихового шрота, рассчитанная в программе *PASS*, позволяет

сделать предположение об их сопоставимой терапевтической эффективности с флавоноидным комплексом препарата «Детралекс» [3].

Следует отметить, что исследования последних лет сконцентрированы в основном на механизмах метаболизма и биодоступности полифенольных веществ, в том числе флавоноидов, в организме человека. Так, известно, что около 5-10 % полифенолов (особенно агликоны) всасывается в тонком кишечнике, в то время как 90-95 % всех полифенолов достигают области толстой кишки в неабсорбированной форме и для достижения желаемого терапевтического эффекта полифенолов в кишечнике потребуется эффективная система доставки. Таким образом, флавоноиды должны быть максимально биодоступными для обеспечения ожидаемого терапевтического эффекта, что достигается различными способами, один из которых – микронизация [2].

Однако, исследований по микронизации флавоноидов облепихового шрота в условиях ультразвукового воздействия и определению их биодоступности, в настоящий момент не проводилось.

**Выводы.** Таким образом, проведенный аналитический обзор и результаты собственных исследований свидетельствует о перспективности использования флавоноидов облепихового шрота в качестве эффективных фармацевтических субстанций, в том числе флебопротекторов. Обозначена перспектива дальнейших исследований – апробация метода микронизации с подбором оптимального режима и параметров волнового воздействия с исследованием опытных образцов МОФФ облепихового шрота и подтверждением их фармакологической активности *in vitro* (специфические биотест-системы) и *in vivo* (модель венозного тромбоза мелких лабораторных животных) в сравнении с коммерческим лекарственным препаратом «Детралекс» (Россия). Что позволит разработать композицию флебопротектора на основе очищенной фракции флавоноидов облепихового шрота.

### Список литературы

1. Gryniewicz G. Phytochemicals Between Nutrition and Medicine // Acta Scientific Nutritional Health. – 2020. – Vol. 4. – P. 24–29 DOI: 10.31080/ASNH.2020.04.
2. Karas D. Ulrichová J., Valentová K. Galloylation of polyphenols alters their biological activity // Food and Chemical Toxicology. – 2017. – Vol. 105. – P. 223–240 DOI: [10.1016/j.fct.2017.04.021](https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.021).
3. Аверьянова Е.В., Школьникова М.Н., Рожнов Е.Д., Минаков Д.В., Баташов Е.С., Шаихова Б.К. Исследование биологической активности флавоноидов облепихового шрота с применением специфических биотест-систем // Химия растительного сырья. – 2020. – № 4. – С. 235–241 DOI: 10.14258/jcprm.2020048859.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

4. Воронков А.В., Гамзелева О.Ю. Обзор современных флеботропных препаратов на основе флавоноидов как перспективных эндотелиопротекторов при лечении хронических заболеваний вен // *Амбулаторная хирургия*. – 2019. – № 1-2. – С. 27–33 DOI: [10.21518/1995-1477-2019-1-2-27-33](https://doi.org/10.21518/1995-1477-2019-1-2-27-33).

5. Теплова В.В., Исакова Е.П., Кляйн О.И., Дергачева Д.И. [и др.] Природные полифенолы: биологическая активность, фармакологический потенциал, пути метаболической инженерии // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2018. – Т. 54. – № 3. – С. 215–235.



**СЕКЦИЯ 3  
ПЕРВИЧНЫЕ И ВТОРИЧНЫЕ  
МЕТАБОЛИТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ И  
ГРИБОВ И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ  
ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ**

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

<sup>1</sup>БУЛАШКО О.Н., <sup>2</sup>ПОЗНЯКОВСКИЙ В.М.  
**ПРОБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММА МОЛОЧНОКИСЛЫХ  
БАКТЕРИЙ *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS***

<sup>1</sup>Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия  
<sup>2</sup>Кемеровский государственный медицинский университет, г. Кемерово  
e-mail: [olgabulashko@mail.ru](mailto:olgabulashko@mail.ru)

<sup>1</sup>BULASHKO O. N., <sup>2</sup>POZNYAKOVSKY V. M.  
**PROBIOTIC PROPERTIES OF *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS*  
LACTIC BACTERIA STRAIN**

<sup>1</sup>Kuzbass State Agricultural Academy  
<sup>2</sup>Kemerovo State Medical University, Kemerovo  
e-mail: [olgabulashko@mail.ru](mailto:olgabulashko@mail.ru)

**Аннотация:** В данном исследовании был изучен штамм молочнокислых бактерий *Lactobacillus Rhamnosus* на пробиотическую активность согласно методическим указаниям МУ 2.3.2.2789-10 по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов.

**Abstract:** In this study, a strain of lactic acid bacteria *Lactobacillus Rhamnosus* was studied for probiotic activity in accordance with the methodological instructions MU 2.3.2.2789-10 for sanitary and epidemiological assessment of the safety and functional potential of probiotic microorganisms used for food production.

**Ключевые слова:** пробиотики, молочнокислые бактерии, метаболиты, микробиом, штамм.

**Keywords:** probiotics, lactic acid bacteria, metabolites, microbiome, strain.

**Цель исследования.** Изучить пробиотические свойства штамма *Lactobacillus Rhamnosus* для дальнейшей идентификации бактериоцина.

**Материалы и методы исследования.** На антимикробную активность изначально было исследовано 25 штаммов молочнокислых бактерий, из которых *Lactobacillus Rhamnosus* показал лучший результат (зона ингибирования патогенной флоры составила 42 мм). Поэтому именно этот штамм был выбран для настоящего исследования.

**Антагонистическая активность штамма бактерий.** Из флакона с 1-й генерацией выросшей культуры делали пересев с помощью стерильной стеклянной градуированной пипетки в стерильный флакон питательной средой MRS из расчета 5% к объему среды. Инкубировали в термостате при 37 ° С. Проводили контроль стерильности посева и определяли количество жизнеспособных клеток глубинным методом посева в жидкие и полужидкие

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

питательные среды в пробирках, либо поверхностным методом по ГОСТ Р 56139-2014.

Исследование проводилось методом диффузии в агар с измерением зоны подавления роста тест-культуры. Результат считался положительным, если зона ингибирования была диаметром  $> 10$  мм. Результаты исследования представлены на рисунке 1.

**Каталазная активность штамма.** Сущность метода заключается в обнаружении выделения пузырей кислорода при добавлении 10 % перекиси водорода к колонии или суспензии клеток исследуемого штамма, которое свидетельствует о продукции каталазы. Облигатные анаэробы и многие микроаэрофилы каталазу не образуют. Результаты исследования представлены на рисунке 2.

**Устойчивость штамма к действию желчи и искусственного желудочного сока.** Выдерживали 1 мл культуры в растворе 0,3% желчи КРС и в искусственном желудочном соке при  $(37 \pm 2)$  °С в течение 2 часов, высевали образцы перед термостатированием и по окончании двухчасовой экспозиции. Регистрация результатов производили в виде подсчета количества жизнеспособных бактерий, которые дают колонию.

**Результаты исследования и их обсуждение.** На рисунке 1 показаны зоны ингибирования против патогенов *E. coli* и *St. aureus*.

Результат является максимальным показателем из всех известных на данное время среди изученных штаммов молочнокислых бактерий. Поэтому можно считать, что данный штамм обладает бактериоцинными свойствами, которые мы в дальнейшем планируем изучать при помощи метода хроматографии.

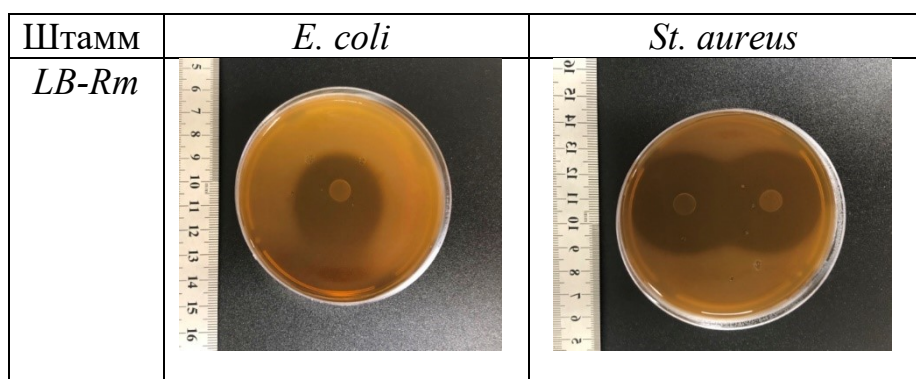


Рисунок 1 – Зоны ингибирования против *E. coli* и *St. aureus*

По каталазной активности штамма происходило выделение кислорода, хорошо заметное по образованию пузырьков газа, наблюдалось у тест-штамма с

положительным контролем – *S. Aureus*, у исследуемого штамма LB- Rm выделения кислорода не было.

Устойчивость штамма к действию желчи и искусственного желудочного сока не стабильна. При высеве на численность в желчи сохранилось количество колоний до  $10^9$  КОЕ, а в желудочном соке до  $10^6$  КОЕ. Спустя 2 часа термостатирования при  $37^\circ\text{C}$  в желчи численность составляла  $5 \cdot 10^8$  КОЕ, а в желудочном соке произошло полное ингибирование культуры.

**Выводы.** *Lactobacillus Rhamnosus* в целом проявил себя как достаточно мощный и перспективный штамм для применения как в пищу, благодаря своим бактерицидным свойствам, так и в фармацевтике – альтернатива антибиотикам. Более широкий интерес в наших дальнейших исследованиях предстоит все же для пищевой промышленности в целях использовать данный штамм бактерий как природный консервант. Это обеспечивает населению более качественную и натуральную продукцию благодаря своим пробиотическим свойствам:

- способствуют пищеварению и конкурируют за питательные вещества с патогенами;
- изменяют местное рН для создания неблагоприятной местной окружающей среды для патогенов;
- вырабатывают бактериоцины для ингибирования патогенов;
- уничтожают супероксидные радикалы;
- стимулируют эпителиальную продукцию муцина;
- усиливают кишечную барьерную функцию;
- конкурируют с патогенами за адгезию;
- модифицируют исходящие из патогенов токсины.

### Список литературы

1. Блинкова Л.П. Биотехнологические условия синтеза бактериоцинов/Блинкова Л.П., Машенцева Н.Г., Хорольский В.В., Горобец О.Б., Дорофеева Е.С.//Журн. Микробиол. – 2006. - №2, - С. 83 – 89.
2. Онищенко Г. Г. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов. - Москва, 2011. - 37 с.
3. Постникова Е.А. Поиск перспективных штаммов бифидобактерий и лактобацилл для разработки новых биопрепаратов/Постникова Е.А., Ефимов Б.А., Володин Н.Н., Кафарская Л.И.//Журн. Микробиол. – 2004. – № 2. – С. 64 – 69.

МАЛЫЦЕВА Е. М., БОРИСОВА И. С.  
**ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ  
*BACILLUS SUBTILIS* НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ  
СОЕДИНЕНИЙ БОБОВ *VIGNA RADIATA L.***

Кемеровский государственный медицинский университет, г. Кемерово  
e-mail: elen-malceva@yandex.ru

MALTSEVA E. M., BORISOVA I. S.  
**EFFECTS OF FERMENTATION BY DIFFERENT STRAINS  
*BACILLUS SUBTILIS* FOR THE CONTENT OF PHENOLIC  
COMPOUNDS MUNG BEANS (*VIGNA RADIATA L.*)**

Kemerovo State Medical University, Kemerovo  
e-mail: elen-malceva@yandex.ru

**Аннотация:** в работе представлены результаты измерения содержания фенольных соединений после щелочной ферментации бобов маш (*Vigna radiata L.*), пробиотическими культурами *Bacillus subtilis* 534 («Споробактерин») и одомашненной культуры *Bacillus subtilis natto*. Установлено, что максимальное накопление фенольных соединений при ферментации *Bacillus subtilis* 534 наблюдалось после их ферментации в течение 48 часов и увеличивалось на  $32,69 \pm 0,36$  % по сравнению с образцами, которые не подвергались ферментации. При ферментации *Bacillus subtilis natto* значительный прирост содержания фенольных соединений замечен после 48 часов ферментации (на  $48,34 \pm 0,29$  %) и продолжал незначительно расти при 72 часовой ферментации. Увеличение концентрации флавонов происходит при ферментации в течение 24 часов, затем содержание флавонов значительно снижается.

**Abstract:** The paper presents the results of measuring the content of phenolic compounds after alkaline fermentation of mung beans (*Vigna radiata L.*), probiotic cultures of *Bacillus subtilis* 534 ("Sporobacterin") and a domesticated culture of *Bacillus subtilis natto*. It was found that the maximum accumulation of phenolic compounds during fermentation of *Bacillus subtilis* 534 was observed after their fermentation for 48 hours and increased by  $32.69 \pm 0.36\%$  compared to the samples that were not fermented. During the fermentation of *Bacillus subtilis natto*, a significant increase in the content of phenolic compounds was observed after 48 hours of fermentation (by  $48.34 \pm 0.29\%$ ) and continued to grow slightly at 72 hours of fermentation. An increase in the concentration of flavones occurs during fermentation for 24 hours, then the content of flavones is significantly reduced.

**Ключевые слова:** *Bacillus subtilis natto*, *Bacillus subtilis* 534, споробактерин, бобы маш (*Vigna radiata L.*), фенольные соединения, флавоноиды.

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

**Keywords:** *Bacillus subtilis natto*, *Bacillus subtilis* 534, sporobacterin, mung bean (*Vigna radiata* L.), phenolic compounds, flavonoids.

Одной из важнейших пищевых бобовых культур являются бобы маш, или бобы мунг (*Vigna radiata* L.), которые содержат полноценный легкоусваиваемый белок, ценные водорастворимые волокна, полиненасыщенные жирные кислоты, макро- и микроэлементы (кальций, железо, цинк и др.), витамины и минорные биологически активные соединения (гидроксикоричные кислоты, флавоноиды, сапонины [1]. Содержащиеся в бобах маш антипитательные вещества – фитиновая кислота, вербаскоза, ингибиторы трипсина, препятствующие биодоступности макро- и микронутриентов, легко устраняются термической обработкой, проращиванием или ферментацией.

Ферментация зернобобовых культур веками использовалась народами Юго-Восточной Азии и Африки для улучшения вкусовых качеств продуктов из бобовых, а также увеличения сроков их хранения. Интерес к ферментированным бобовым связан не только с процессами разложения антипитательных веществ, но и, прежде всего, с повышением биодоступности макро- и микронутриентов. В процессе ферментации разнообразными микроорганизмами и грибами образуются ценные биологически активные соединения, благотворно влияющие на здоровье человека. Все продукты ферментации бобовых – аминокислоты, пептиды, олигосахариды, агликаны флавоноидов и др. – оказывают влияние на липидный, белковый и жировой обмен, обладают выраженной антиоксидантной и иммуномодулирующей активностью, снижают системное низкосортное воспаление [2]. Большое значение для бобовых имеет щелочная ферментация под действием различных штаммов *Bacillus subtilis*.

**Цель исследования** изучить влияние щелочной ферментации различными штаммами *Bacillus subtilis* на количественное содержание фенольных соединений и флавоноидов бобов маша (*Vigna radiata* L.).

**Материалы и методы исследования.** В работе использованы бобы маша, купленные в торговой сети г. Кемерово. Перед ферментацией бобы замачивали водой очищенной и оставляли для набухания на 10-12 часов при комнатной температуре. После чего воду сливали и пропаривали набухшие бобы в стерильной емкости при температуре 120 °С 30 минут. Остывшие бобы инокулировали лекарственным препаратом «Споробактерин» (ООО «Бакорен», Россия, серия 550819), содержащим стандартизированный штамм *Bacillus subtilis* 534, или *Bacillus subtilis natto* в соотношении 100:1. Ферментация проводилась при температуре 40°С, пробы отбирались через 24, 48 и 72 часа ферментации. Сравнением служил образец бобов без ферментации.



Пробоподготовку, определение общего содержания фенольных соединений (общий фенольный индекс, ОФИ) ферментированных бобов маша проводили в соответствии с методиками, описанными в [4].

Идентификацию флавоноидов проводили общепринятыми фитохимическими реакциями (Гринкевич, Сафронич, 1983 г) и методом ТСХ в системе растворителей этилацетат – метанол – муравьиная кислота безводная – вода (30:4:2:1) на хроматографических пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» Хроматограмму проявляли в УФ-свете после обработки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида. УФ-спектр исследуемых извлечений снимали в интервале длин волн 230-450 нм.

Количественное определение флавонов в пересчете на 2''-О-рамнозид витексина проводили методом дифференциальной спектрофотометрии, основанной на реакции с алюминия хлоридом при длине волны 392 нм [5]. Расчет проводили с использованием теоретически рассчитанного значения удельного показателя поглощения стандартного образца 2''-О-рамнозида витексина, равное 232.

Спектрофотометрические исследования проводили на фотометре КФК-3 и спектрофотометре СФ-2000 (Россия) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм.

Все измерения выполнены в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов измерения и корреляционный анализ выполнен с применением стандартной программы Microsoft Office Excel.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Бобы маша (*Vigna radiata* L.) накапливают значительное количество флавоноидов и фенольных кислот в оболочке зерна, конденсированные танины локализуются в основном в семядолях. Флавоноидный состав маша существенно отличается от других пищевых бобовых культур, они не накапливают специфических изофлавонов для семейства бобовых, например соевых бобов, – глицетеина, генистеина, дайдзеина и др. – польза и вред которых в питании активно обсуждается в последнее время [3]. Основными компонентами полифенольного комплекса сырых бобов маша являются фенолкарбоновые кислоты до 6 мг/г (кофейная, гидроксикоричная, феруловая, хлорогеновая, синаповая, галловая и др.), флавоноиды до 1,78 мг/г, в частности антоцианы, С-гликозиды флавонов (витексин, изовитексин и их О-гликозиды, лютеолин), флавонолы (кверцетин, мирицетин, кемпферол), катехин и следы изофлавонов (дульцинозид), дубильные вещества конденсированного типа до 5,75 мг/г [1].

Все соединения, составляющие полифенольный комплекс бобов маша обладают выраженной антиоксидантной активностью. Кроме того, витексин (апигенин-8-С-β-D-глюкопиранозид) в исследованиях *in vitro* на клеточных культурах и *in vivo* на экспериментальных животных, демонстрирует

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

противовоспалительную, антигипертензивную, гепатопротекторную, противоопухолевую, антимеланогенезную активность, а также гипогликемическое, гиполипидемическое действие [1,2].

Ферментации подвергаются предварительно вымоченные и пропаренные бобы, которые в процессе обработки теряют значительную часть водорастворимых фенольных соединений. Согласно литературных данных [2, 4], при ферментации протекает биоконверсия фенольных соединений под действием ферментов микроорганизмов, с образованием биодоступных форм агликонов флавоноидов и высвобождением фенольных соединений из трудноперевариваемых растительных тканей.

В настоящем исследовании установлено, что максимальное накопление фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту при ферментации бобов маша *B. subtilis* 534 наблюдалось через 48 часов и увеличивалось на  $32,69 \pm 0,36$  % по сравнению с образцами, которые не подвергались ферментации. При ферментации *B. subtilis natto* значительный прирост содержания фенольных соединений замечен также после 48 часов ферментации (на  $48,34 \pm 0,29$  %) и продолжал незначительно расти при ферментации в течение 72 часов (рис.1).

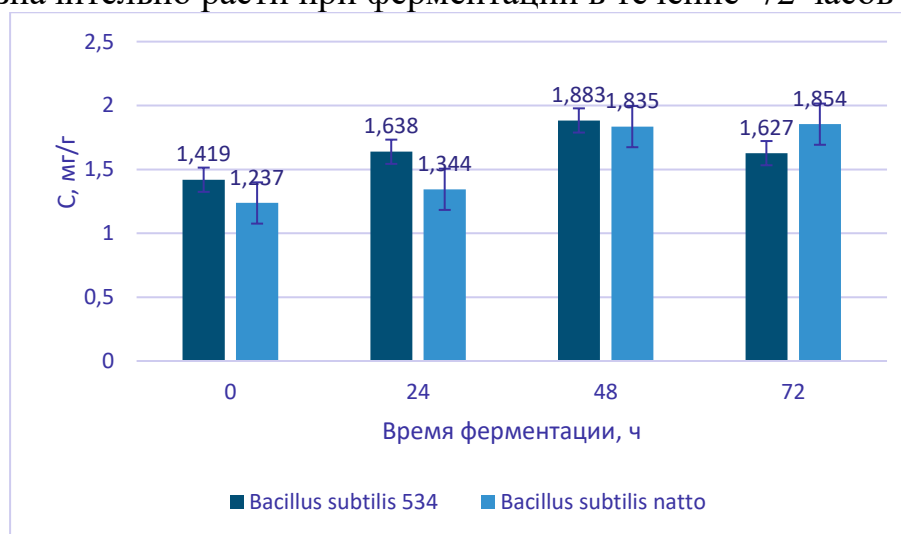


Рисунок 1 – Содержание фенольных соединений (мг/г) в пересчете на галловую кислоту в зависимости от времени ферментации (часы) бобов маша (*Vigna radiata* L.)

На следующем этапе исследования проведена идентификация и количественное определение флавоноидов. УФ-спектр (рис.2) водно-спиртовых извлечений не ферментированных и ферментированных бобов маша в интервале длин волн от 200 до 500 нм соответствует УФ-спектру витексина или его О-гликозидов [5]. В спектре наблюдаются 2 максимума поглощения в области  $272 \pm 2$  нм и  $335 \pm$  нм. Качественные реакции и ТСХ-скрининг подтвердили наличие флавонов. При проявлении хроматограммы 5% спиртовым раствором

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

$AlCl_3$  наблюдали выраженную зону адсорбции при  $R_f = 0,70$ , окрашенную в УФ-свете в оранжевый цвет. Ниже доминирующей зоны наблюдается ещё 2 зоны адсорбции.

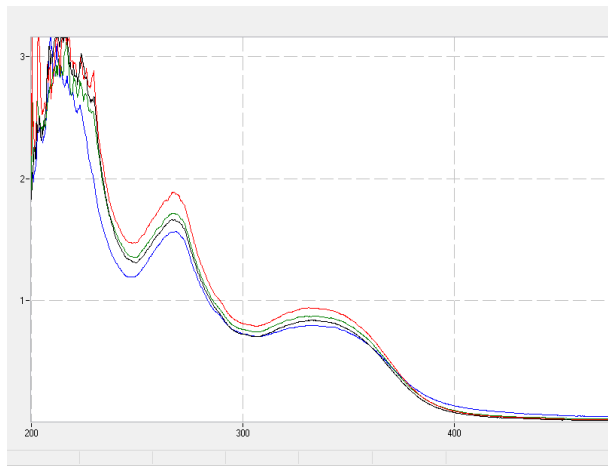


Рисунок 2 – УФ-спектр водно-спиртовых извлечений из ферментированных *Bacillus subtilis* 534 и не ферментированных бобов маша (*Vigna radiata* L.)

В дифференциальном спектре извлечений из не ферментированных и ферментированных *B. subtilis* 534 и *B. subtilis natto* бобов маша, обработанных 5% раствором наблюдается отчетливый максимум при длине волны  $390 \pm 2$  нм, характерный для О-гликозидов витексина [5]. Поэтому определение количественного содержания суммы флавоноидов в исследуемых извлечениях проводили в пересчете на витексина 2''-О-рамнозид с использованием показателя удельного показателя поглощения 232 [5]. Результаты измерений приведены на рис.3.

Полученные данные показывают, что значительный прирост содержания флавононов на  $45,62 \pm 0,21$  % наблюдается после 24-часовой ферментации *B. subtilis* 534, ферментация *B. subtilis natto* увеличивает содержание флавононов только на  $21,29 \pm 0,15$ %. Наблюдается также значительное снижение содержания биологически активных флавононов после 48- и 72-часовой ферментации штаммом *B. subtilis natto*.

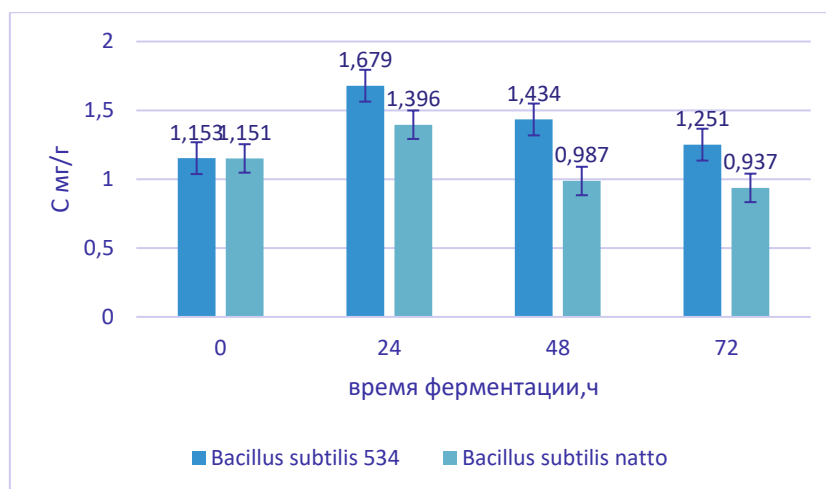


Рисунок 3 – Содержание суммы флавоноидов (мг/г) в зависимости от времени ферментации (часы) бобов маша (*Vigna radiata* L.)

**Выводы.** Результаты, полученные в ходе настоящего исследования, показали, что щелочная ферментация *B. subtilis* 534 и *B. subtilis natto*, бобов маша повышает общее содержание фенольных соединений и биологически активных флавонов. Штамм *Bacillus subtilis* 534 показал более высокую ферментативную активность при биоконверсии флавонов в сравнении со штаммом *Bacillus subtilis natto*.

#### Список литературы

1. Hou D, Yousaf L, Xue Y, et al. Mung Bean (*Vigna radiata* L.): Bioactive Polyphenols, Polysaccharides, Peptides, and Health Benefits. *Nutrients*. 2019;11(6):1238. doi:10.3390/nu11061238
2. Kårlund A, Gómez-Gallego C, Korhonen J, Palo-Oja OM, El-Nezami H, Kolehmainen M. Harnessing Microbes for Sustainable Development: Food Fermentation as a Tool for Improving the Nutritional Quality of Alternative Protein Sources. *Nutrients*. 2020;12(4):1020. Published 2020 Apr 8. doi:10.3390/nu12041020
3. Яргин С. В. Фитоэстрогены и продукты из сои: плюсы и минусы // Главный врач Юга России. 2019. Т. 69. №. 5. С. 35-37.
4. Мальцева Е.М., Борисова И.С. Влияние ферментации с использованием пробиотика *Bacillus subtilis* 534 на содержание фенольных соединений и антиоксидантную активность соевых бобов // в сборнике: «Медико-биологические и нутрициологические аспекты здоровьесберегающих технологий». Материалы I Международной научно-практической конференции. 2020. С. 82-87.
5. Куркин В.А., Морозова Т.В., Правдивцева О.Е., Куркина А.В. Количественное определение суммы флавоноидов в листьях боярышника кроваво-красного // Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т 52. №10. С. 34-38.

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

ПИНЧУК Л.Г.

**ПРИМЕНЕНИЕ ГРИБОВ**

**РОДА TRICHODERMA В ПРОИЗВОДСТВЕ КОРМОВ**

*Кемеровский государственный медицинский университет, г Кемерово*

*e-mail: [Ludmilapinchuk@mail.ru](mailto:Ludmilapinchuk@mail.ru)*

PINCHUK L.G.

**APPLICATION OF MUSHROOMS**

**OF THE GENUS TRICHODERMA IN THE PRODUCTION OF FEED**

*Kemerovo State Medical University, Kemerovo*

*e-mail: [Ludmilapinchuk@mail.ru](mailto:Ludmilapinchuk@mail.ru)*

**Аннотация:** Показаны некоторые аспекты биотехнологического использования грибов рода *Trichoderma* для улучшения перевариваемости и повышения кормовой ценности растительного сырья, в частности, обогащение белком богатым незаменимыми аминокислотами, за счет целлюлозной активности, биodeградации фенольных соединений, а также пентозанов зерновых злаков в кормах, что способствует уменьшению антипитательного эффекта данных биологически активных веществ.

**Abstract:** some aspects of the biotechnological use of fungi of the genus *Trichoderma* for improving the digestibility and increasing the nutritional value of plant raw materials are shown, in particular, enrichment with protein rich in essential amino acids, due to cellulose activity, biodegradation of phenolic compounds, as well as pentosans of cereals in feed, which helps to reduce the anti-nutritional effect of these biologically active substances.

**Ключевые слова:** Грибы рода *Trichoderma*, целлюлаза, фенолоксидазы, пентозаны, ксиланазы, корма, кормовые добавки.

**Keywords:** Mushrooms of the genus *Trichoderma*, cellulase, phenol oxidase, pentosans, xylanases, feed, feed additives.

**Цель исследования.** Проведение литературного поиска по проблеме использования различных видов грибов рода *Trichoderma* при производстве кормов и кормовых добавок в рационах кормления сельскохозяйственных животных.

**Материалы и методы исследования.** В качестве материалов исследования использовались научные публикации на различных носителях – печатные, электронные. При анализе и представлении материала применялись методы исследования: теоретические (абстрагирование, формализация, аналогия, аксиомизация) и эмпирические (описание, сравнение).

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

**Результаты исследования и их обсуждение.** Род *Trichoderma* в настоящее время является одним из наиболее изучаемых грибов, интерес продиктован практической и экологической значимостью. Виды *Trichoderma* продуцируют ферменты (целлюлазы, хитиназы, пектиназы, ксиланазы, серинзависимые протеиназы и др.), находят широкое применение в различных областях промышленности - целлюлозно-бумажной и пищевой, производстве моющих средств, в получении спирта, преобразовании отходов, содержащих целлюлозу, в глюкозу [3]. Актуальность и возрастающий интерес к микроскопическим грибам рода *Trichoderma*, обусловлен бурным развитием биотехнологии, методы которой расширяют возможности практического применения данного рода грибов для получения биологически активных веществ, разрушения растительных пигментов и пр. [11, 14].

Грибы рода *Trichoderma* являются продуцентами метаболитов с высокой антибиотической активностью в отношении грибов и бактерий. Показана способность к выделению различных фитогормонов, органических кислот, аминокислот, витаминов и свыше 100 антибиотиков [15; 7; 20]. Изоляты рода *Trichoderma* являются активными продуцентами гидролаз и способны к глубокой деструкции, как клеточных стенок растений, так и отдельных трудно расщепляемых растительных полисахаридов: целлюлозы, гемицеллюлозы, пектина до мономерных форм и других полимеров [16; 17, 18, 2, 11].

Микромицет *Trichoderma virida* проявляет высокую целлюлозную активность, за счет способности микромицета продуцировать фермент целлюлазу. Содержание сырой клетчатки после 96 часовой ферментации растительного сырья снижалось на 30 %, по сравнению с её содержанием в исходном субстрате [3, 8].

Подтверждено продуцирование микромицетом грибов *Trichoderma* фермента фенолоксидазы, осуществляющего биодegradацию лигнина [16] и других фенольных соединений [10, 6].

Изучается использование грибков видов Триходерма для получения кормовых добавок [19, 4, 9, 13], благодаря их способности утилизировать широкий набор субстратов, технологичности и низкой токсичности в отношении животных [7].

Использование грибов рода *Trichoderma* в качестве продуцентов ферментных препаратов в сельском хозяйстве для приготовления кормов, ограничивается недостаточной изученностью химического состава их биомассы и лимитирует возможность гарантированного и безопасного их применения в кормопроизводстве. Установлена эффективность переработки сельскохозяйственного сырья и производства кормов животных, содержащих обогащенный селеном мицелий грибов этого рода. При этом содержание белка в биомассе штаммов *Trichoderma asperellum* «ТН-11» и «ТН-5», *Trichoderma*

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**



harzianum «M99/5» и *Trichoderma koningii* «ТСЛ-06», составляет 18,50%–22,43%, при аминокислотном составе богатом незаменимыми аминокислотами: лизином, триптофаном, аргинином и лейцином, лимитированными в растительных кормах. Общее содержание липидов, с преобладанием гликолипидов, нейтральных жиров и фосфолипидов, в биомассе микромицетов рода *Триходерма* составляет 4,21–13,57%. На основании данного исследования разработана селенсодержащая кормовая добавка с содержанием белка не менее 22%, селена 93,75 мг/г и определена ее перевариваемость, обеспечивающая повышение активности пепсина 0,213 ТЕ [5].

Создана коллекция и проведен скрининг штаммов рода *Trichoderma*, имеющих потенциальную ценность для производства кормовых добавок для цыплят на основе мицелия штаммов *T. asperellum* ТН-5, *Laetiporus sulphureus* МZ-22 и функционального мясного протеина.

Способность видов рода *Trichoderma* утилизировать широкий набор субстратов, технологичность и низкая токсичность в отношении животных расширяет спектра использования биомассы грибов, обогащенной микроэлементами как добавку в корма для птиц [12].

Зерновые культуры, составляющие основу кормовых рационов животных, характеризуются весомым содержанием пентозанов, влияющих на вязкость кормового кома в пищеварительном тракте животных. Повышение вязкости вызывает затруднение переваривания и ограничивает включение в кормовые рационы данных культур, особенно кормовой ржи, содержание пентозанов в зерне которой достигает 11,4%. К примеру, содержание пентозанов в зерне пшеница составляет до 6,8%, ячменя - до 7,2%. Установлено, что перевариваемость рационов резко снижается при содержании ржи более 20%. Увеличении доли ржи до 70% снижает перевариваемость корма на 30%. Ксиланазы грибов *Trichoderma*, добавленные к кормам моногастричных животных, содержащих зерно ржи, уменьшают антипитательный эффект пентозанов и увеличивают их перевариваемость. Выявлено, что содержании 20% ржи в рационе снижает перевариваемость на 84,0%, а 30% ржи - до 74,9%. При содержании ржи в рационе 40% переваримость уменьшаться до 62,0%, при 70,0% - до 50%.

Применение ксиланаз *V. circulans*, амилосубтилин, глюкавоморин, обеспечивает гидролиз 71% сырья, препараты *T. Reesei* - 54,4 % сырья. Таким образом, более предпочтительным для использования при гидролизе, исходя из его глубины, является использование схемы с применением препаратов *V. circulans*.

Применение предварительной гидротермической обработки с использованием препарата ксиланаз *V. circulans* не вызывает значительного снижения переваримости вплоть до 60% содержания ржи в рационе. При

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

содержании ржи в рационе 70% переваримость составляла 80%, что всего на 5 % меньше переваримости рационов, содержавших 10–20% ржи и на 30 % выше переваримости без предварительной гидротермической обработки [1].

**Выводы.** На основании анализа научных публикаций, выявлен интерес к изучению грибов рода *Trichoderma* при решении проблемы формирования кормовых рационов сельскохозяйственных животных. Их применение, в процессе биотехнологической переработки растительного сырья, обеспечивает улучшение перевариваемости, повышает кормовую ценность, обогащая корма белком богатыми незаменимыми аминокислотами, разрушает фенольные соединения, снижает вязкость кормового кома за счет разрушения пентозанов в зерне злаковых кормов, тем самым становится возможным их обогащение зерном ржи, характеризующимся особенно высоким содержанием пентозанов, но вместе с тем, по сравнению с другими злаковыми культурами, имеющем более полноценный по аминокислотному составу белок и биогенный микроэлементный состав.

### Список литературы

1. Алимова Ф.К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma* Казань: Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, 2006. 209 с.
2. Атеф А.А. Влияние *Trichoderma* почв Египта и Республики Татарстан на отдельные параметры живых систем: дис. кандидат биологических наук: 03.01.04 - Биохимия. Казань. 2011. 158 с.
3. Бабицкая В.Г. Грибы эффективные деструкторы лигниноцеллюлозных субстратов: их морфологическая и физиолого-биохимическая характеристика // Микробиология и фитопатология. 1993. Т. 7. № 5. С. 38-44.
4. Биосинтез кормовых ксиланазных ферментных препаратов грибами *Trichoderma* и бактериями рода *Bacillus* / Е.В. Скворцов, Ф.К. Алимова, В.И. Вершинина и [др.] // Материалы Международной научно-практической конференции «Перспективы и проблемы развития биотехнологии в рамках единого экологического пространства стран содружества» 25-28 мая, 2005. Минск-Нарочь, Республика Беларусь. Мн, 2005. С. 226.
5. Бондарь П.М. Штаммы грибов рода *Trichoderma* (Pers.: Fr.) как основа для создания биопрепаратов защиты растений и кормовых добавок: кандидат биологических наук: 03.01.06 - Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). Красноярск. 2011. 219 с.
6. Бондарь П.Н., Любяшкин А.В. скрининг штаммов рода *trichoderma* – биодеструкторов фенола // Фундаментальные исследования. 2015. № 12-6. С. 1091-1094; URL: <http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=39735> (дата обращения: 21.05.2021).

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

7. Взаимоотношения *Trichoderma*, распространенной на территории республики Татарстан, с микроорганизмами и растениями / Ф.К. Алимова, Р.И. Тухбатова, Д.И. Тазетдинова и [др.] // Грибы и водоросли в биоценозах – 2006: Материалы международной конференции, посвященной 75-летию Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова: Москва, 31 января - 3 февраля 2006 г. М.: МАКС Пресс, 2006. С. 12-13.

8. Гнеушева И.А., Павловская Н.Е., Яковлева И.В. Биологическая активность грибов рода *Trichoderma* и их промышленное применение // Вестник ОрелГАУ. № 3 (10) С. 21-24.

9. Исследование ферментных препаратов грибов *Trichoderma* и бактерии *Vacillus*, деградирующих трудногидролизующие компоненты растительной биомассы / Е.В. Скворцов, Ф.К. Алимова, В.И. Вершинина и [др.] // Материалы научной конференции «Проблемы биотехнологии в сельском хозяйстве». Казань: КГСХА, 2005. С. 31-32.

10. Лазарева Е.С., Смирнов В.Ф., Стручкова И.В. Влияние компонентов среды культивирования на фенолоксидазную активность микромицетов *Trichoderma virida* и *Trichoderma lignorum* // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2009. № 1. С. 77-80.

11. Матчанова Д.Ш. Микроскопические грибы рода *Trichoderma* — продуценты биологически активных веществ // Молодой ученый. 2017. № 3 (137). С. 230-233. - URL: <https://moluch.ru/archive/137/38580/> (дата обращения: 21.05.2021).

12. Садыкова В.С. Экология грибов рода *Trichoderma* (Pers.:Fr.) бассейна реки Енисей, их биологические свойства и практическое использование: дис. доктор биологических наук: 03.02.12 - Микология. Москва. 2012. 417 с.

13. Скворцов Е.В., Алимова Ф.К., Абузярова Д.М. Биосинтез ксиланаз аборигенными изолятами *Trichoderma* // Вестник Казанского технологического университета. – Казань: Отечество. № 1. 2005. С. 251-255.

14. Чижаева А.В., Дудикова Г.Н. Научный обзор: теоретические и практические аспекты конструирования пробиотических препаратов // Научное обозрение. Биологические науки. 2017. № 2. С. 157-166; URL: <https://science-biology.ru/ru/article/view?id=1065> (дата обращения: 12.05.2021).

15. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains/T. Benitez, A.M. Rincon, M.C. Limon and [etc.] // International Microbiology. 2004. № 7. P. 249-260.

16. Claus H. Laccases structure reactions, distribution // Micron. 2004. V. 35. P. 93-95.

17. Harman G.E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp // Phytopathology. 2006. Vol.96. P. 190-194.

18. Harman G.E. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity // New Phytologist. 2011. Vol.189. P. 647-649.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

19. Trichoderma species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus* / G.J. Samuels, S.L. Dodd, W. Gams and [etc.] // *Mycologia*. 2002. № 1. P. 156-170.

20. Trichoderma: the genomics of opportunistic success / I.S. Druzhinina, V. Seidl-Seiboth, A. Herrera-Estrella and [etc.] // *Nat Rev Microbiol*. 2011. Vol. 10. P.749-759.

<sup>1</sup>ЩЕРБАТОВ Р.Е., <sup>2</sup>ПАНКРАТОВ Т.А.

**ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ БИОЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ  
ЛИШАЙНИКОВ *Cladonia* spp.**

<sup>1</sup>ГБОУ Школа № 1576, г. Москва

<sup>2</sup>Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ «Биотехнологии»  
РАН, г. Москва

e-mail: [tpankratov@gmail.com](mailto:tpankratov@gmail.com)

<sup>1</sup>SHCHERBATOV R.E., <sup>2</sup>PANKRATOV T.A.

**SELECTIVE BIOCIDAL ACTIVITY OF *Cladonia* spp. LICHEN EXTRACTS**

<sup>1</sup>MSBISE "School № 1576", Moscow

<sup>2</sup>S.N. Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology of the  
Russian Academy of Sciences, Moscow

e-mail: [tpankratov@gmail.com](mailto:tpankratov@gmail.com)

**Аннотация:** Исследовано воздействие лиофилизированных экстрактов талломов лишайников рода *Cladonia* spp. на Грам-отрицательные, Грам-положительные бактерии, дрожжи и грибы. Обнаружено селективное ингибирование роста Грам-положительных бактерий родов *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter* и *Bacillus* экстрактами, полученными с использованием ацетона и этилового спирта. Показано, что экстракты, полученные с использованием гексана, не обладали биоцидной активностью в отношении всех исследованных микроорганизмов. Обнаружено отсутствие биоцидных эффектов в отношении Грам-отрицательных бактерий и грибов. Полученные данные могут быть использованы для разработки рецептур пребиотиков.

**Abstract:** The effect of lyophilized extracts of lichen thalli of the genus *Cladonia* spp. on Gram-negative and Gram-positive bacteria, yeasts and fungi was studied. Selective inhibition of growth of Gram-positive bacteria of genera *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter* and *Bacillus* by extracts obtained using acetone and ethyl alcohol was found. It was shown that the extracts obtained using hexane had no biocidal activity against all the microorganisms studied.

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

The absence of biocidal effects against Gram-negative bacteria and fungi was found. The data obtained can be used to develop prebiotic formulations.

**Ключевые слова:** биоциды, лишайники, пребиотики, *Cladonia*

**Keywords:** biocides, lichens, prebiotics, *Cladonia*

**Цель исследования.** Целью исследования было изучение воздействия экстрактов биологически активных веществ (БАВ) лишайников рода *Cladonia* на Грам-положительные и Грам-отрицательные бактерии, а также дрожжи, выделенные из кисломолочных продуктов, и грибы *Geotrichum candidum*.

**Материалы и методы исследования.**

1. Образцы лишайников были предоставлены к.б.н. Самылиной О.С. (ИНМИ им. С.Н. Виноградского). Они отобраны летом 2019 и 2020 гг. в Алтайском крае (52.27; 79.47). Сведения об образцах показаны в Таблице 1.

Таблица 1. Список использованных образцов лишайников.

№	Видовая принадлежность	№	Видовая принадлежность
1	<i>Cladonia stellaris</i>	5	<i>Cladonia arbuscula</i>
2	<i>Cladonia arbuscula</i>	9	<i>Cladonia stellaris</i>
3	<i>Cladonia rangiferina</i>	10	<i>Cladonia rangiferina</i>
4	<i>Cladonia stellaris</i>	11	<i>Cladonia arbuscula</i>

2. Тест-культуры микроорганизмов были получены из коллекции ЦКП UNIQEM (ФИЦ «Биотехнологии» РАН), из личных коллекций к.б.н. Улановой Р.В, Дёмкиной Е.В. и Панкратова Т.А. (Таблица 2).

Таблица 2. Характеристика использованных в работе тест-культур.

Штамм	Таксономическая принадлежность/Грам принадлежность (+/-)	Роль в микробиоме человека
<i>Staphylococcus aureus</i>	Firmicutes, Г+	Патоген, комменсал кожи
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Firmicutes, Г+	Патоген, комменсал кожи
<i>Enterococcus faecium</i>	Firmicutes, Г+	Комменсал кожи, нормальная флора кишечника
<i>Micrococcus luteus</i>	Actinobacteria, Г+	Патоген, комменсал кожи
<i>Arthrobacter agilis</i>	Actinobacteria, Г+	Свободноживущий почвенный сапротроф

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием



<i>Bacillus coagulans</i>	Firmicutes, Г+	Пробиотик, свободноживущий
<i>Esherichia coli</i> , штамм K12	Proteobacteria, Г-	Пробиотик, нормальная флора кишечника
<i>Salmonella typhimurium</i> штамм TA100	Proteobacteria, Г-	Патоген, мутантный штамм с исключенными факторами патогенности
<i>Debaryomyces</i> sp.	Ascomycota, дрожжи	Компонент молочных продуктов
<i>Geotrichum candidum</i>	Ascomycota, Saccharomycetes, мицелиальные грибы	Компонент микрофлоры сыров, используется в пищевом производстве

3. Экстракцию БАВ проводили холодным способом при температуре 20-22°C в течение 10 дней при периодическом перемешивании на вортексе. Навеску сухого таллома, измельченного до размера частиц 0.1 – 1 мм (0.5 г), помещали в стеклянную пробирку с притертой крышкой и заливали 5 мл охлажденного этанола (95%, марка Люкс, Россия). Такой же объем растворителя использовали для экстракции ацетоном (ХЧ, Рarгеас) и гексаном (HPLC, UV, Applichem).

4. Аликвоту полученного экстракта (5 мкл) наносили на стерильные диски из фильтровальной бумаги (d=6 мм), высушивали методом вакуумной сушки при охлаждении. В качестве контролей использовали чистые растворители. Количество повторных экспериментов – 3.

5. Тест культуры засеивали сплошным газоном на среду LB с глюкозой (1 г/л). На поверхности агаровых пластин располагали диски с экстрактами и контрольные диски. Учёт результатов эксперимента проводили через 24 и 48 суток инкубации при температуре 34°C в термостате с вентиляцией.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Результаты контрольных опытов подтвердили отсутствие эффекта чистых лиофилизированных растворителей на рост микроорганизмов и контаминации.

Наибольшая ингибирующая активность была обнаружена у ацетоновых экстрактов. Немного меньшую активность проявляли спиртовые экстракты. Ингибирующая активность экстрактов с применением гексана не выявлена.

Из Таблицы 3 и Рисунка 1 можно видеть, что максимальную ингибирующую активность в отношении Грам-положительных патогенных бактерий *S. aureus*, *S. epidermidis* и *M. luteus* проявляли экстракты из образцов 1, 2, 4, 5, 9, 11. Экстракты образцов 3, 10 не были активны в отношении этих бактерий, за исключением ацетонового экстракта образца 3 в отношении культуры *M. luteus*.



Таблица 3. Величина зон ингибирования роста (мм) Грам-положительных патогенов

№	спиртовой экстракт			ацетоновый экстракт		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epiderm</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epiderm</i>	<i>M. luteus</i>
1	7	5	5	7	5	5
2	3.5	4	4	8	6	4
3	0	0	0	0	0	6
4	2.5	2	2	7	5	3.5
5	7.8	5	5	8	4.8	6
9	5	3	4	4	2	3
10	0	0	0	0	0	0
11	3	3	4	5	5	4

На основании этих результатов можно сделать вывод, что наиболее активными в отношении патогенных кокков оказываются экстракты лишайников *C. arbuscula* и *C. stellaris*. Экстракты *C. rangiferina* оказались активными только в одном случае - в отношении *M. luteus*.

Лидером по чувствительности к лишайниковым экстрактам оказался *E. faecium*, зоны ингибирования в этом случае варьировали от 7.5 до 10 мм (рис. 2). *A. agilis* по уровню чувствительности был близок к *E. faecium*. Менее всего, среди Грам-положительных бактерий, на вытяжки реагировали бактерии *B. coagulans*, зоны ингибирования не превышали 4 мм. Вместе с тем на *E. coli* и *S. typhimurium* экстракты не оказывали биоцидного воздействия (рис. 2). Дрожжи и грибы *G. candidum* также оказались нечувствительны.

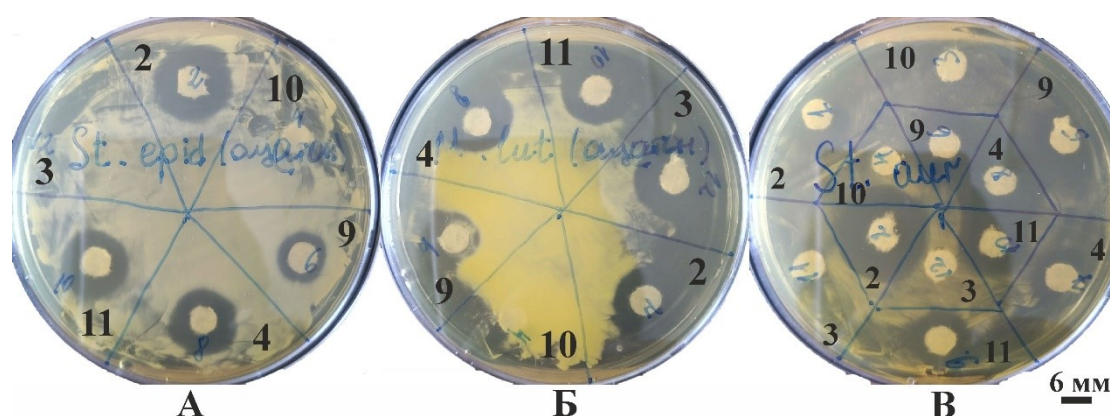


Рис. 1. Воздействие экстрактов лишайников на рост Грам-положительных бактерий *S. epidermidis* (А), *M. luteus* (Б) при воздействии ацетоновых экстрактов и *S. aureus* (В) при воздействии спиртовых (наружный ряд) и ацетоновых (внутренний ряд) вытяжек. Числами обозначены номера образцов лишайников.

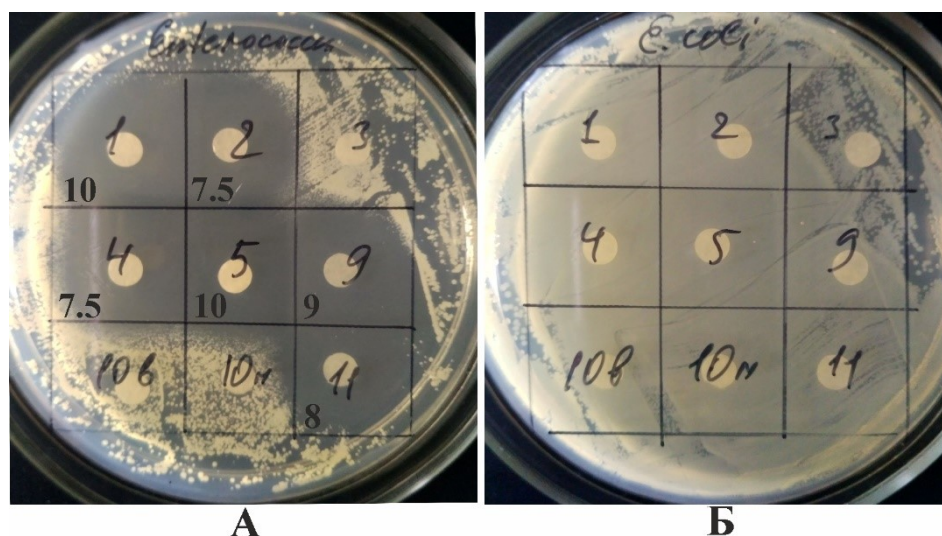


Рис. 2. Воздействие экстрактов лишайников на рост *Enterococcus faecium* (А) и *Escherichia coli* (Б). Числами на панели А обозначены размеры зон ингибирования (мм).

В настоящее время известно [1, 2], что микробные сообщества лишайников рода *Cladonia* и многих других кустистых лишайников представлены в основном Грам-отрицательными бактериями, и, главным образом, протеобактериями класса *Alphaproteobacteria*. Полученные нами данные о токсичности экстрактов лишайников *Cladonia* в отношении патогенных и комменсальных для человека и животных Грам-положительных кокков и *V. coagulans* позволяют предположить, что существует особый механизм селекции бактерий в лишайниковых микробиомах, направленный на избирательное отторжение Грам-положительных бактерий. Причины этого явления пока неясны, однако можно предположить, что Грам-положительные бактерии неспособны к мутуальным отношениям с микобионтом в силу особенностей строения клеточной стенки и наличия особых, специфичных факторов вирулентности. Полученные сведения необходимо дополнять, исследуя другие виды лишайников и бактерий. Возможно, что лиофилизированные экстракты лишайников могут стать дополнением к пробиотическим препаратам, корректирующим микрофлору кишечника при дисбиозах. Предстоит исследование влияния экстрактов лишайников на лактобациллы и бифидобактерии.

#### Выводы.

1. Ацетоновые экстракты лишайников *C. arbuscula* проявляют наибольшее биоцидное действие в отношении Грам-положительных патогенных кокков. Экстракты *C. rangiferina* почти не оказывают токсичного воздействия на эту группу бактерий.

2. Все виды экстрактов не оказывают биоцидного воздействия на Грам-отрицательные бактерии, дрожжи и грибы.

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

3. Экстракты с использованием гексана не активны в отношении всех исследованных групп бактерий и грибов.

4. Эффект селективного ингибирования возможно использовать в пребиотических препаратах для подавления роста Грам-положительных патогенов в кишечнике.

#### **Список литературы**

1. Панкратов Т.А., Качалкин А.В., Корчиков Е.С., Добровольская Т.Г. Микробные сообщества лишайников (обзор) // Микробиология, 2017. Т. 86, № 3, с. 265-283.
2. Cardinale M., Puglia A.M., Grube M. Molecular analysis of lichen-associated bacterial communities // FEMS Microbiol. Ecol. 2006. V. 57. P. 484–495.

**СЕКЦИЯ 4**  
**КОРРЕКЦИЯ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ПРИ**  
**РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

ГРЕНТИКОВА И.Г., МАЛЬЦЕВА Е.М., БОРИСОВА И.С.  
**АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЭУБИОТИКОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ  
РАВНОВЕСИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА, НА  
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

*Кемеровский государственный медицинский университет,*

*г. Кемерово*

e-mail: [grentikova@mail.ru](mailto:grentikova@mail.ru)

GRENTIKOVA I.G., MALTSEVA E.M., BORISOVA I.S.  
**ANALYSIS OF THE RANGE OF EUBIOTICS REGULATING THE  
BALANCE OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS IN THE  
PHARMACEUTICAL MARKET OF THE KEMEROVO REGION**

*Kemerovo State Medical University,*

*Kemerovo*

e-mail: [grentikova@mail.ru](mailto:grentikova@mail.ru)

**Аннотация:** В настоящем исследовании дана оценка насыщенности регионального фармацевтического рынка Кемеровской области-Кузбасса противодиарейными лекарственными препаратами биологического происхождения, которые регулируют микробиоценоз кишечника, в сравнении с российским рынком. Для данной группы препаратов определены маркетинговые характеристики ассортимента по составу действующих веществ, торговым названиям, производителям и видам лекарственных форм. Рассчитаны показатели ассортимента: широта, глубина и полнота. Даны рекомендации по повышению доступности противодиарейных эубиотиков для коррекции дисбиоза кишечника.

**Abstract:** This study assesses the saturation of the regional pharmaceutical market of the Kemerovo region-Kuzbass with antidiarrheal drugs of biological origin that regulate intestinal microbiocenosis, in comparison with the Russian market. For this group of drugs, the marketing characteristics of the assortment are determined by the composition of active substances, trade names, manufacturers and types of dosage forms. The indicators of the assortment are calculated: breadth, depth and completeness. Recommendations for improving the availability of antidiarrheal eubiotics for the correction of intestinal dysbiosis are given.

**Ключевые слова:** дисбиоз, эубиотики, маркетинговые исследования, фармацевтический рынок.

**Keywords:** dysbiosis, eubiotics, marketing research, pharmaceutical market.

Коррекция клинико-лабораторного синдрома – дисбиоза кишечника, возникающего под действием различных неблагоприятных факторов внутренней

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

и внешней среды, является важнейшей клинической задачей. Качественные и количественные нарушения эубиоза (нормобиоценоза) кишечника возникают вторично при применении антибиотиков, при острых кишечных инфекциях, сопровождающихся диареей, и различных неинфекционных гастроэнтерологических заболеваниях [1,2]. По данным [2,3] теми или иными отклонениями нормобиоценоза страдают до 90% населения России. Поэтому актуальной задачей является качественная и количественная оценка доступности для населения ассортимента противодиарейных лекарственных препаратов биологического происхождения, регулирующих микробиоценоз кишечника, с учетом их маркетинговых характеристик.

**Целью исследования** является маркетинговый анализ ассортимента противодиарейных эубиотиков на российском и региональном рынке на примере Кемеровской области-Кузбасса.

**Материалы и методы.** Для проведения исследования использованы официальные справочные издания о лекарственных средствах: Государственный реестр лекарственных средств (<https://grls.rosminzdrav.ru>, дата обращения 04.05.2021 г.), Регистр лекарственных средств – РЛС® (<https://www.rlsnet.ru>); «Справочник лекарственных средств» Видаль (<https://www.vidal.ru>), Сведения о региональном рынке получены по результатам изучения прайс-листов крупных фирм-дистрибьюторов, работающих на рынке Кемеровской области – ЗАО НПК «Катрен», «ФК Пульс», ЗАО ЦВ «ПРОТЕК», «ФК Гранд Капитал», ООО «Фармкомплект». Маркетинговые характеристики – коэффициент широты ( $K_{Ш}$ ) и полноты ( $K_{П}$ )- рассчитывались общепринятыми методиками.

В работе использованы следующие методы – контент-анализ, логический, структурный, сравнительный и графический анализ, с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2010.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Российский фармацевтический рынок предлагает потребителям широкий спектр лекарственных препаратов (ЛП) – эубиотиков, применяемых для коррекции микробиоценоза кишечника и регулирующих рост кишечной флоры. Актуальной задачей данного исследования является комплексное изучение и качественная и количественная оценка доступности для потребителей номенклатуры противодиарейных эубиотиков с учетом их маркетинговых характеристик.

Анализ ассортимента по производственному признаку показал, что на отечественном фармацевтическом рынке лидирующую позицию занимают российские производители – 68,4%, а на долю зарубежных производителей приходится 31,6%. Аналогичное соотношение наблюдается и на региональном рынке Кемеровской области-Кузбасса: доля российских производителей составляет 66,7%, а зарубежных – 33,3%.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием



Сегментирование ЛП эубиотиков по виду лекарственной формы (ЛФ) показало, что среди ЛП, зарегистрированных на российском рынке основной ЛФ является лиофилизат для приготовления раствора для приема внутрь и местного применения – 32,56%, на региональном рынке эта ЛФ занимает 21,74%. Сопоставление доли других ЛФ в структуре ассортимента ЛП на российском и региональном рынке выглядит следующим образом: порошок для приема внутрь – 20,93% и 21,74%, капсулы – 16,28% и 30,43%, ректальные и вагинальные суппозитории и капсулы – 13,95% и 13,04%, таблетки – 9,30% и 4,35%, капли для приема внутрь – 4,65% и 4,35%, суспензия для приема внутрь – 2,33% и 4,35% соответственно. Таким образом, на региональном рынке лидирующую позицию занимает более удобная для потребителя ЛФ – капсулы для приема внутрь.

Маркетинговые характеристики группы противодиарейных эубиотиков приведены в таблице 1.

Таблица 1 Структура ассортимента и маркетинговые характеристики противодиарейных лекарственных препаратов биологического происхождения, регулирующих равновесие кишечной флоры

№	МНН, состав	Фармацевтический рынок России				Фармацевтический рынок Кемеровской области-Кузбасса				Кш	Кп
		ТН		ЛП		ТН		ЛП			
		кол-во	доля %	кол-во	доля %	кол-во	доля %	кол-во	доля %		
1	А07FA Противодиарейные микроорганизмы										
1.1	Бифидобактерии и бифидум (Bifidobacterium bifidum)	5	19,20	16	37,19	2	13,33	8	34,75	0,4	0,5
1.2	Бифидобактерии и бифидум + Кишечные палочки (Bifidobacterium bifidum + Escherichia coli)	1	3,85	2	4,65	0	0	0	0	0	0
1.3	Бифидобактерии + Лактобактерии (Bifidobacterium + Lactobacillus)	1	3,85	1	2,33	0	0	0	0	0	0

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

#### Секция 4. Коррекция состава микробиоты при различных заболеваниях

1.4	Бифидобактерии и бифидум + Лизоцим (Bifidobacterium bifidum + Lysocinum)	2	7,69	2	4,65	1	6,67	1	4,35	0,5	0,5
1.5	Бифидобактерии и лонгум + Энтерококкус фециум (Bifidobacterium longum + Enterococcus faecium)	1	3,85	1	2,33	1	6,67	1	4,35	1	1
1.6	Кишечные палочки (Escherichia coli)	2	7,69	2	4,65	0	0	0	0	0	0
1.7	Бациллюс субтилис (Bacillus subtilis)	2	7,69	3	6,98	1	6,67	1	4,35	0,5	0,33
1.8	Бифидобактерии и бифидум+Лактобактерии плантарум (Bifidobacterium bifidum + Lactobacillus plantarum)	1	3,85	2	4,65	1	6,67	2	8,70	1	1
1.9	Прочие	3	11,55	3	6,98	2	13,33	2	8,70	0,66	0,66
2	A07FA01 Микроорганизмы, продуцирующие молочную кислоту										
2.1	Лактобактерии ацидофильные (Lactobacterium acidophilum)	1	3,85	3	6,98	1	6,67	1	4,35	1	0,33
2.2	Лактобактерии (Lactobacterium )	2	7,69	2	4,65	2	13,33	2	8,70	1	1
3	A07FA02 Сахаромицеты Boulardii										
3.1	Сахаромицеты буларди (Saccharomyces boulardii)	1	3,85	2	4,65	1	6,67	2	8,70	1	1

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

#### Секция 4. Коррекция состава микробиоты при различных заболеваниях

4	A07FA51 Микроорганизмы, продуцирующие молочную кислоту в комбинации с другими препаратами										
4.1	Лактобактерии ацидофильные + Грибки кефирные (Lactobacillus acidophilus + Saccharomyces)	1	3,85	1	2,33	1	6,67	1	4,35	1	1
4.2	Бифидобактерии и анималис + Лактобактерии рамнозус + Пиридоксин +Тиамин (Bifidobacterium animalis + Lactobacterium rhamnosus + Piridoxinum + Thiaminum)	1	3,85	1	2,33	0	0	0	0	0	0
4.3	Прочие	2	7,69	2	4,65	2	13,32	2	8,70	1	1
	ИТОГО	26	100	43	100	15	100	23	100	-	-

Из данных таблицы 1 видно, что на региональном рынке представлено только 57,69% торговых наименований ЛП эубиотиков, зарегистрированных на российском рынке. На наш взгляд, это связано с увеличением доли БАД, содержащих эубиотики, в структуре аптечного ассортимента, что косвенно свидетельствуют данные отчетов DSMgroup за последний год. Однако это утверждение требует подтверждения после дополнительных исследований регионального рынка БАД-эубиотиков.

**Выводы.** По результатам проведенных исследований установлено, что структура регионального рынка ЛП противодиарейных эубиотиков, в Кемеровской области-Кузбассе имеет отличия от российского и характеризуется меньшим количеством торговых наименований и их лекарственных форм. При этом на рынке Кузбасса представлены все торговые наименования ЛП с МНН «Бифидобактерии бифидум+Лактобактерии плантарум» («Флорин»®форте»), «Лактобактерии ацидофильные» («Ацилакт»), «Сахаромицеты буларди» («Энтерол»), «Лактобактерии ацидофильные + Грибки кефирные» («Аципол»®), «Бифидобактерии лонгум + Энтерококкус фециум» («Бифиформ»®) и препарат «Линекс» (коэффициент широты равен 1).

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

### Список литературы

1. Ардатская М.Д., Бельмер С.В., Добрица В.П., Захаренко С.М., Лазебник Л.Б., Минушкин О.Н., Орешко Л.С., Ситкин С.И., Ткаченко Е.И., Суворов А.Н., Хавкин А.И., Шендеров Б.А. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, Комплексная диагностика и лечебная коррекция // ЭИКТГ. 2015. №5 (117). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/disbioz-disbakterioz-kishechnika-sovremennoe-sostoyanie-problemy-kompleksnaya-diagnostika-i-lechebnaya-korreksiya> (дата обращения: 04.05.2021).
2. Циммерман Я.С. Эубиоз и дисбиоз желудочно-кишечного тракта: мифы и реалии // Клиническая медицина. 2013. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/eubioz-i-disbioz-zheludochno-kishechnogo-trakta-mify-i-realii> (дата обращения: 14.05.2021).
3. Оконенко Т. И., Оконенко Л. Б. Ассортимент и маркетинговые исследования лекарственных препаратов для лечения дисбактериоза кишечника // Вестник РУДН. Серия: Медицина. 2009. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/assortiment-i-marketingovye-issledovaniya-lekarstvennyh-preparatov-dlya-lecheniya-disbakterioza-kishechnika> (дата обращения: 14.05.2021).

МАЛИК М.М., АБДРАХМАНОВ М.Д., АЛТЫНБЕКОВА А.,  
ЖУМАГАЛИЕВА А.С., ЕНСЕБАЕВА А.А., ТОХТАСЫНОВА К.А.  
**ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: РОЛЬ ПРЕБИОТИКОВ И  
МЕТАБИОТИКОВ ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ**

*НАО «Медицинский университет Семей», г. Семей, Республика Казахстан  
Кафедра микробиологии имени к.м.н. М.М. Уразалина  
e-mail: [muratzhan.1998@mail.ru](mailto:muratzhan.1998@mail.ru)*

MALIK M. M., ABDRAKHMANOV M. D., ALTYNBEKOVA A. E. ,  
ZHUMAGALIEVA. S., ENSEBAEVA A.A., TOKHTASINOVA K. A.  
**INFECTIOUS DISEASES: THE ROLE OF PREBIOTICS AND  
METABIOTICS IN DYSBACTERIOSIS**

*NPJSC «Semey Medical University», Semey, Republic of Kazakhstan  
The Department of Microbiology named after M. M. Urazalin  
e-mail: [muratzhan.1998@mail.ru](mailto:muratzhan.1998@mail.ru)*

**Аннотация:** при инфекционных заболеваниях под воздействием возбудителей болезни в организме появляются признаки интоксикации. Для устранения токсина возбудителя и вредного воздействия на организм

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

применяются антибиотики. В большинстве случаев антибиотики наряду с уничтожением болезнетворных микроорганизмов ослабляют нормальную микрофлору, профилактика которой является основной задачей.

**Abstract:** in infectious diseases, under the influence of pathogens, signs of intoxication appear in the body. To eliminate the toxin of the pathogen and the harmful effects on the body, antibiotics are used. In most cases, antibiotics, along with the destruction of pathogenic microorganisms, weaken the normal microflora, the prevention of which is the main task .

**Ключевые слова:** дисбактериоз, инфекционные заболевания, пребиотики.

**Keywords:** dysbiosis, infectious diseases, prebiotics

**Цель исследования.** Определение правил кормления с целью профилактики и восстановления дисбактериоза в процессе лечения при инфекционных заболеваниях.

**Материалы и методы исследования.** В ходе исследования мы обсудили тему и поделились мнениями с врачом-инфекционистом, учителем инфекционных болезней, профессором Кусмановым Акылбеком Турлыхановичем. Помимо того, что нам предложили направление исследования, мы предоставили группе исследователей дополнительные материалы. Совместно с группой исследователей мы рассмотрели дополнительные материалы и методы. В качестве экспериментального исследования мы использовали световой микроскоп. Под микроскопом мы исследовали простейших (лейшмания, эвглена, вольвокс), приготовив и осмотрев препарат. Также мы рассмотрели механизм развития дисбактериоза при инфекционных заболеваниях, меры профилактики, принцип лечения. Виды и стадии развития дисбактериоза изучены по литературным данным. Мы рассмотрели значение пребиотиков и метабиотиков при дисбактериозе.

**Результаты исследования и их обсуждение.** В ходе исследования нами был рассмотрен механизм развития дисбактериоза учеными Университета. Врач-Инфекционист, профессор Кусманов Акылбек Турлыханович высказал мнение, что развитие дисбактериоза развивается при использовании антибиотиков, особенно препаратов широкого спектра действия. Однако дисбактериоз-понятие широкое. На него влияет не только снижение иммунитета, но и миграция населения. Для развития дисбактериозных или дисбактериозных процессов характерно снижение иммунитета вследствие уничтожения под действием антибиотиков полезных бактерий, входящих в состав нормальной микрофлоры. Если в толстой кишке содержится 1,5 млн бактерий, то состав этой микрофлоры влияет на стабильность иммунитета. К основным представителям нормальной микрофлоры относятся: бифидобактерии, кишечная палочка (колибактерин), лактобактерии и другие. А из этих бактерий готовят пробиотики. Еще одна

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

причина развития дисбактериоза заключается в том, что помимо снижения иммунитета, количество бактерий может увеличиваться и вызывать эндогенные инфекционные заболевания. К ним относятся: протей, стафилококк, некоторые виды грибов и многое другое. [1] В общем исследовании мы рассмотрели, как готовятся пробиотики и как они влияют на организм. Группа исследователей поделилась мнением ученых о пробиотиках. Вообще пробиотики изготавливаются специально из представителей нормальной микрофлоры, которые готовятся из живых бактерий. К широко известным в настоящее время пробиотикам относятся: Бифидумбактерин, Лактобактерин, Бификол, Субтилин. Основное действие этих пробиотиков способствует восстановлению дисбактериозных процессов, развившихся после инфекционных заболеваний. Но, чтобы пациентам было легче принимать, пробиотики включают в состав молочных продуктов. Пробиотики в форме препарата выпускаются в виде таблеток или порошка в зависимости от лекарственной формы. К ним относятся: кефир Бифидок, Био-кефир. А в способе применения пробиотиков тоже будут исключения. Например, принимая 2-3 раза в день, продолжительность лечения составляет от 1 до 6 месяцев. Основным механизмом действия пробиотиков при таком приеме заключается в том, что дисбактериоз устраняется путем пополнения нормальной микрофлоры в толстой кишке бактериями. [2] Мы работали удаленно через группу исследователей во время исследования. Посмотрели препараты с помощью светового микроскопа. В том числе из простоты посмотрели препараты лейшмания, эвглена, вольвокс. Его сфотографировали в ходе анализа и обсудили с учеными-микробиологами. В процессе просмотра картинок мы искали ответ на вопрос, Могут ли представители этих простейших вызывать дисбактериоз. Ученые считают, что при наличии очага этих возбудителей, механизма распространения (через контактный путь, алиментарный) при снижении иммунитета может возникнуть дисбактериоз. Кроме того, для устранения дисбактериозных процессов, восстановления обменных процессов используют метабиотики. Основным механизмом его действия помогает восстановить обменные процессы при дисбактериозе, а также при неинфекционных заболеваниях. Дисбактериоз чаще встречается при лечении инфекционных заболеваний методом антибиотикотерапии. При парентеральном введении основных антибиотиков широкого спектра действия развивается вследствие нарушения нормальной микрофлоры. К основным антибиотикам широкого спектра действия относятся: макролиты, тетрациклиновая группа, хлорамфеникол, лактамные антибиотики. Эти антибиотики уничтожают их жизнедеятельность, хотя оказывают бактериостатическое и бактерицидное действие на возбудителей инфекционных заболеваний. Однако нормальная микрофлора также может уничтожить представителей. А одним из основных симптомов дисбактериоза является то, что

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**



из-за снижения иммунитета представители нормальной микрофлоры могут заболеть или вызвать экзогенную инфекцию. [3] Для профилактики развития данного дисбактериоза во время инфекционных заболеваний также следует строго соблюдать режим питания. Одним из них являются правила диеты и питания, особенно при лечении острых инфекционных заболеваний (холера, холера, ботулизм). Один из основных принципов – белок должен содержать 80 г в пище, воду нужно пить 2 – 2,5 л в день. Данный режим способствует нормализации этого иммунитета. При острой форме инфекционных заболеваний назначают диету №13. Согласно нашему исследованию, дисбактериоз может быть редким или отсутствовать, если этот режим питания хорош. [4] При общем дисбактериозе кишечника происходят изменения, связанные с нарушением нормальной микрофлоры в толстой кишке. Он имеет такие симптомы, как закупорка, гниение пищевых продуктов в кишечнике. В целом проявляется такими симптомами, как слабость, диарея, повышение температуры. В ходе нашего исследования мы рассмотрели темпы развития этих изменений. Если дисбактериоз присутствует в течение длительного времени, это может привести к дальнейшему эндогенному инфекционному заболеванию. При лечении этого этапа лучше с осторожностью применять антибиотикотерапию. Пациент должен хорошо питаться каждый раз, когда он принимает антибиотик в порядке питания. [5] Пребиотики именно те вещества, которые необходимы в этот период. Если принимать комбинированный вид с молочными продуктами, состояние больного будет намного лучше.

**Выводы.** В исследовании мы хотели исследовать значение пребиотиков и метабиотиков, связывая их с большим количеством случаев. Дело в том, что лечение дисбактериоза, вызванного при лечении инфекционных заболеваний, само по себе является сложным. Именно в этой ситуации очень эффективно принимать вещества, повышающие иммунитет организма. Пребиотики будут приемлемы, когда мы в ходе исследования поделились мнением с инфекционистом, он сказал, что не только повышает иммунитет, но и нормализует режим питания. В целом, можно сказать, что исследование прошло очень интересно. Несмотря на то, что мы работали удаленно, мы лабораторно работали под микроскопом и рассматривали, насколько они могут вызывать инфекционные заболевания. Сейчас в медицине для поддержания иммунитета часто используют пребиотики и метабиотики. Это потому, что это научно доказано.

#### Список литературы

1. Б.А. Рамазанова, Қ.Құдайбергелұлы, А.Л. Котова, М.М. Уразалин, А.А. Табаева. Медициналық микробиология – Алматы 2011. С – 122
2. Б.А. Рамазанова, Қ.Құдайбергелұлы, А.Л. Котова, М.М. Уразалин, А.А.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

- Табаева. Медициналық микробиология – Алматы 2011. С – 268
3. Қ.Д. Рахимов. Фармакология – Алматы 2015. С – 493
4. Б.Л. Смолянский, Ж.И. Абрамова. Справочник по лечебному питанию для диетсестер и поваров – Ленинград «Медицина» Ленинградское отделение 1984. С – 189
5. Ә. Нұрмұхамбетұлы. Патолофизиология – Алматы 2007. С – 551

МОРГУНОВ И.Г.<sup>1</sup>, КАМЗОЛОВА С.В.<sup>1</sup>, КАРПУХИНА О.В.<sup>2</sup>,  
БОКИЕВА С.Б.<sup>3</sup>, ЛУНИНА Ю.Н.<sup>1</sup>, ИНОЗЕМЦЕВ А.Н.<sup>2</sup>  
**ВЛИЯНИЕ ИЗОЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ НА  
ПРОСТРАНСТВЕННЫЙ КОМПОНЕНТ ПАМЯТИ**

<sup>1</sup>ФИЦ "Пушинский научный центр биологических исследований РАН",  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, г.  
Пушино

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
биологический факультет, г. Москва

<sup>3</sup>Северо-Осетинский государственный университет им. К. Хетагурова,  
г. Владикавказ

e-mail: [morgunovs@rambler.ru](mailto:morgunovs@rambler.ru)

MORGUNOV I.G.<sup>1</sup>, KAMZOLOVA S.V.<sup>1</sup>, KARPUKHINA O.V.<sup>2</sup>,  
BOKIEVA S.B.<sup>3</sup>, LUNINA J.N.<sup>1</sup>, INOZEMTSEV A.N.<sup>2</sup>  
**EFFECT OF ISOCITRIC ACID ON SPATIAL MEMORY**

<sup>1</sup>Federal Research Center «Pushchino Scientific Center for Biological Research of  
the Russian Academy of Sciences», G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and  
Physiology of Microorganisms of the Russian Academy of Sciences,  
Pushchino

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow

<sup>3</sup>Khetagurov North Ossetian State University, Vladikavkaz

e-mail: [morgunovs@rambler.ru](mailto:morgunovs@rambler.ru)

**Аннотация:** Установлено, что препарат изолимонной кислоты, синтезируемый с помощью дрожжей *Yarrowialipolytica*, противодействует негативному влиянию молибдата аммония ( $10^{-5}$  М) и диацетата свинца ( $10^{-7}$  М) на обучение и память крыс. В условиях эмоционального стресса препарат изолимонной кислоты положительно влияет на пространственный компонент памяти у крыс интактных и подвергнутых влиянию солей тяжёлых металлов.

**Abstract:** It was found that the preparation of isocitric acid, synthesized by yeast *Yarrowia lipolytica*, counteracted the negative effect of ammonium molybdate ( $10^{-5}$

«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием

M) and lead diacetate ( $10^{-7}$  M) on the learning and memory of rats. Under conditions of emotional stress, the preparation of isocitric acid has a positive effect on the spatial component of memory in intact rats and exposed to heavy metal salts.

**Ключевые слова:** изолимонная кислота; биотехнологическое производство и применение; память, стресс, тяжелые металлы

**Keywords:** isocitric acid; biotechnological production and application; memory; stress; heavy metals

**Цель исследования.** Представить результаты испытаний препарата трео-Ds-изолимонной кислоты (ИЛК), полученного микробиологическим синтезом с помощью дрожжей *Yarrowialipolytica*, на пространственный компонент памяти лабораторных животных на фоне воздействия тяжелых металлов.

**Материалы и методы исследования.** Работы по биосинтезу ИЛК с помощью дрожжей *Y. lipolytica* осуществлялись в 10-л ферментере АНКУМ-2М (СКБ, Пущино). Тестирование препарата ИЛК проводилось на белых беспородных крысах-самцах, распределенных по 5-ти группам. Первая группа – крысы, получавшие стерильную дистиллированную воду (по 2 мл) за 1 ч до начала опытов. Второй группе вводили ИЛК в дозе 20 мг/кг; третьей группе вводили ИЛК в комбинации с диацетатом свинца ( $10^{-7}$  M); четвертой группе вводили водный раствор молибдата аммония ( $10^{-5}$  M); пятой группе вводили ИЛК в комбинации с солью молибдена. Соли тяжелых металлов вводили внутрибрюшинно по 2 мл за 5 ч до начала опытов, ИЛК – через 4 ч после введения растворов солей тяжелых металлов

**Результаты работы и их обсуждение.** Интерес к биосинтезу ИЛК связан с перспективой её применения для лечения болезни Паркинсона, железо-дефицитной анемии, метаболических миопатий, вызванных недостаточностью сукцинат-дегидрогеназы и аконитат-гидратазы, мутации гена *IDH1* (одной из причин новообразований). Ранее мы установили, что препарат ИЛК по своему положительному действию превосходит классический антиоксидант – аскорбиновую кислоту в модели окислительного стресса, индуцированного действием перекиси водорода и распространенных экотоксикантов (Cu, Pb, Zn, Cd) на клетки инфузории *Paramecium caudatum* [4]. Кроме того, ИЛК снимает нейроинтоксикацию на фоне солей свинца и молибдена, восстанавливая память и ускоряя обучаемость [5].

До настоящего времени ИЛК производят путем химического синтеза, в результате которого образуется смесь стереоизомеров, разделить которые практически невозможно. Существует способ получения природной ИЛК с использованием специально культивируемых растений *Sedumspectabile*. Однако цена на полученный таким образом продукт слишком высока (750 \$ за 1 грамм калиевой соли ИЛК).

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

Альтернативой химическому синтезу и получению из растений является способ получения ИЛК с помощью дрожжей *Yarrowialipolytica*. Существующие биосинтетические способы получения ИЛК предполагают использование в качестве источника углерода и энергии очищенных субстратов, таких как этанол, рапсовое масло, подсолнечное масло, глюкоза и глицерин [2].

В данной работе впервые показана возможность использования глицерин-содержащего отхода производства биодизеля для получения ИЛК с помощью *Y.lipolytica*.

В ходе выполнения работы показано, что синтез ИЛК можно регулировать, изменяя рН среды, интенсивность аэрации, содержание источника углерода и азота, а также внесением в питательную среду итаконовой кислоты - ингибитора изоцитрат-лиазы. Подбор среды и условий культивирования дал возможность повысить концентрацию ИЛК с 58.32 до 90.2 г/л, а также увеличить выход продукта ( $Y_{\text{ИЛК}}$ ) на 40% и сдвинуть отношение изоцитрат/цитрат с 1.1. до 3. Выделение монокалийевой соли ИЛК из культуральной жидкости проводилось в несколько стадий по ранее разработанной методике [4]. Выделенный препарат представлял собой белый кристаллический порошок с содержанием основного вещества 99.9%.

Изучение влияния препарата ИЛК на пространственный компонент памяти животных проводили по следующей схеме. Вначале у животных в течение 5 опытов (по 25 предъявлений раздражителей в каждом) вырабатывали условный рефлекс активного избегания (УРАИ) удара электрическим током в челночной камере, служащую экспериментальной моделью обучения и памяти, как это описано ранее [5]. При выработке реакции в перегородке камеры было открыто отверстие, примыкающее к дальней стенке камеры. После окончания выработки проводили “сбой” [5]. После этого были проведены ещё 2 опыта. Во втором из них после 25 предъявлений осуществляли пространственную переделку выработанного навыка, для чего закрывали дальнейшее отверстие и открывали отверстие, примыкающее к ближней к экспериментатору стенке камеры. Затем в 20 предъявлениях тестировали УРАИ в этих пространственно-изменённых условиях.

Анализ приведенных в таблице 1 результатов показывает, что воспроизведение УРАИ после пространственной переделки у контрольных животных резко уменьшилось. Величины УРАИ лишь к концу опыта приблизились к исходному уровню. В то же время ИЛК противодействовала указанному угнетению. Падение уровня воспроизведения не было столь драматичным, как у контрольных крыс. Воспроизведение УРАИ вернулось к исходному уровню в 6-10 предъявлениях. На всём протяжении тестирования величины УРАИ у опытных животных были статистически выше контрольных показателей.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

Таблица 1. Влияние ИЛК и солей тяжелых металлов на УРАИ до и после пространственной переделки навыка

Условие	До	После			
	21-25	1-5	6-10	11-15	16-20
Контроль	100*	60±29.6	70±17.3	70±17.3	94±6.3
ИЛК	94±13.5*	78±14.8 <sup>#</sup>	92±10.3 <sup>#</sup>	94±9.7 <sup>#</sup>	100
ИЛК+Рв	86±16.5	80±24.9	82±14.8	94±9.7	80±18.7
Мо	68±10.4 <sup>#</sup>	75±27.8	65±20.7	73±21.2	88±14.9
ИЛК+Мо	95±9.3 <sup>!</sup>	90±14.1 <sup>&amp;</sup>	98±6.3 <sup>#,!</sup>	88±21.5 <sup>#,!</sup>	100 <sup>!</sup>

Данные представлены по блокам из 5 предъявлений в виде средней и стандартного отклонения. \* -  $p < 0.05$  относительно величин после пространственной переделки; # -  $p < 0.05$  относительно контроля; ! – относительно молибдена; & -  $p < 0.05$  относительно ИЛК

Как было описано ранее [5], соль свинца оказывала глубокое угнетение УРАИ, что не позволило провести сбой и последующую пространственную переделку. Применение ИЛК предотвратило подобное угнетение, что позволило завершить опыты. Как видно из таблицы 1, воспроизведение УРАИ после пространственной переделки было сопоставимо с контрольными величинами.

Соль молибдена оказала меньшее угнетение, и крысы перед пространственной переделкой совершали почти 7 реакций избегания из 10 возможных. Тем не менее, количество УРАИ в последние 5 предъявлений восстановления навыка уровень избегания оставался ниже контрольного (таблица 1). В то же время применение ИЛК устранило угнетающее влияние молибдена. При совместном введении ИЛК и молибдена уровень УРАИ до пространственной переделки приблизился к контрольному, а после переделки превысил его. Выявленная особенность совместного действия молибдена и ИЛК заслуживает внимания. Как отмечено выше, молибден угнетал УРАИ. Кроме того, уровень избегания на фоне молибдена был ниже того, который имел место на фоне ИЛК. Но при совместном применении этих факторов произошло усиление их эффекта. Это проявилось в том, что количество УРАИ при совместном воздействии стало больше, чем в контроле. Более того, их стало больше, чем у крыс, получавших ИЛК без молибдена, что смотрится несколько парадоксально, поскольку обычно тяжёлые металлы уменьшают активность нейротропных веществ. Подобный парадоксальный эффект отмечен ранее при совместном применении молибдена с семаксом - молибден и семакс по отдельности угнетали выработку УРАИ, а при совместном воздействии стимулировали обучение [1].

Как показано ранее [4,5], ИЛК обладает антиоксидантными свойствами, противодействующими негативному влиянию окислительного стресса со

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**



стороны тяжёлых металлов, в частности, на обучение и память животных. В последнее время установлено, что окислительный стресс возникает не только в патогенных условиях, таких как действие тяжёлых металлов, гипоксия, но и в нормальных условиях, предъявляющих умеренные нагрузки на ЦНС при решении когнитивных задач. Так, установлено, что формирование УРАИ вызывает окислительный стресс. Антиоксидант карнозин уменьшает его и ускоряет обучение [1,3].

Пространственная переделка УРАИ, к которой мы прибегли в наших опытах, представляет собой более трудную задачу для животных, чем выработка избегания. Семакс, обладающий антиоксидантной активностью, улучшает воспроизведение избегания после пространственной переделки [1]. Исходя из сказанного выше, можно предположить, что в наших опытах пространственная переделка УРАИ также вызывает у животных окислительный стресс, а положительный эффект ИЛК в этих условиях объясняется её антиоксидантной активностью.

**Выводы.** Полученные данные о положительном влиянии ИЛК на лабораторных животных в модели обучения и пространственной памяти имеют решающее значение для будущих исследований. Окислительный стресс лежит в основе многих нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера. В этом случае пациенты страдают потерей пространственной памяти, что ставит под угрозу качество их жизни. Поиск эффективных антиоксидантов, которые могут противодействовать окислительному стрессу, значительно улучшит качество жизни таких людей.

### Список литературы

1. Иноземцев А.Н., Бокиева С.Б., Карпухина О.В., Гумаргалиева К.З., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Парадоксальное влияние сочетанного воздействия семакса и молибдат аммония на обучение и память крыс // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. - 2017. - Т. 72. - № 3. - С. 174-178.
2. Камзолова С.В., Самойленко В.А., Моргунов И.Г. Разработка биотехнологий получения изолимонной кислоты с помощью дрожжей *Yarrowialipolytica* // Медико-биологические и нутрициологические аспекты здоровьесберегающих технологий : материалы I Международной научно-практической конференции (Кемерово, 27 ноября 2020 г.) / отв. ред. В.М. Позняковский, Е.М. Мальцева. – ISBN 978-5-8151-0242-2. - Кемерово: КемГМУ, 2020. – С. 52-57.
3. Inozemtsev A.N., Agapitova A.E., Bokieva S.B., Glazova N.Yu., Levitskaya N.G., Kamenskii A.A., Myasoedov N.F. Differently directed influences of semax on



the formation and functional impairments of an active avoidance reaction in rats // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2015. – V. 45. – P. 173–178.

4. Morgunov I.G., Karpukhina O.V., Kamzolova S.V., Samoilenko V.A., Inozemtsev A.N. Investigation of the effect of biologically active threo-Ds-isocitric acid on oxidative stress in *Paramecium caudatum* // *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. – 2018. – V. 48(1). – P. 1-5.

5. Morgunov I.G., Kamzolova S.V., Karpukhina O.V., Bokieva S.V., Inozemtsev A.N. Biosynthesis of isocitric acid in repeated-batch culture and testing of its stress-protective activity // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2019. -V. 103(8). - P. 3549-3558.

СЕМЕНОВА А.П.

**ВЛИЯНИЕ КЕФИРНЫХ ГРИБКОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ  
НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА**

*Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, ресурсный центр медицинский сеченовский  
предуниверсарий  
e-mail: [madosik04@gmail.com](mailto:madosik04@gmail.com)*

SEMENOVA A.P.

**INFLUENCE OF KEFIR FUNGI ON THE FORMATION OF NORMAL  
INTESTINAL MICROFLORA**

*I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Sechenov preuniversary  
Medical Resource center  
e-mail: [madosik04@gmail.com](mailto:madosik04@gmail.com)*

**Аннотация:** Статья будет интересна людям, которые хотят быть здоровыми, хорошо выглядеть, не используя лекарств. Всего этого, можно добиться, употребляя этот замечательный напиток- кефир. Здоровье человека зависит от многих факторов: образа жизни, окружающей среды, состояния иммунной системы, которая защищает организм. Кишечник, а именно его микрофлора, является одной из главных составляющих иммунитета.

**Abstract:** The article will be interesting for people who want to be healthy, look good, without using drugs. All this can be achieved by drinking this wonderful drink - kefir. Human health depends on many factors: lifestyle, environment, and the state of the immune system that protects the body. The intestine, namely its microflora, is one of the main components of immunity.

**Ключевые слова:** гриб, иммунитет, кефир, кишечник, микрофлора кишечника.

**Keywords:** mushroom, immunity, kefir, intestines, intestinal microflora.

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»:** научно-практическая конференция с международным участием

**Цель исследования.** Изучение литературы, приготовление кефира употребление его в пищу и динамическое наблюдение за состоянием организма.

**Материалы и методы исследования.** Исследование проводилось с применением информационно- поисковых и библиотечных ресурсов, а также приложений для семантического поиска. Метод исследования - анализ и обобщение научной литературы за период с 2003 года по настоящее время.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Тибетский молочный гриб использовался человеком ещё 300 лет назад. Народы Прибалтики применяли гриб для сквашивания молока. В Болгарии гриб получил широкое распространение и использовался повсеместно в крестьянских хозяйствах. В 19 веке швейцарские врачи уже использовали кефир для лечения заболеваний желудка, кишечника, малокровия. [1, с 20] В России тибетский кефирный гриб начали использовать в 19 веке. Многие аристократы того времени лечились за границей и сведения о лечебном действии кефира, исцеляющего болезни, подтолкнули к открытию кефирных лечебниц. Русские врачи использовали кефир для лечения различных заболеваний: рахита, болезней желудка и кишечника, кожных и гинекологических заболеваний, болезней легких, в том числе и туберкулеза, который был очень распространён. Следует отметить, что латыши были искусными молочниками. Молоко, сквашенное тибетским грибом, латыши, как и русские врачи использовали в лечебных целях. Также кефир применяют в косметических целях. [2, с 40-50]

В современном мире количество агрессивных факторов, приводящих к заболеваниям организма значительно увеличилось. Кроме вирусов и бактерий, вредных факторов окружающей среды, появились и другие: консерванты, различные химические добавки, заменители белков, жиров и углеводов, антибиотики и другие лекарственные препараты, которые бессистемно использует человек. Все это приводит к появлению кожных высыпаний, нарушению микрофлоры кишечника и, следовательно, к ослаблению иммунной системы и дефициту иммунитета. [4, с 48-53] Экспериментальные исследования тибетского гриба показали, что эта культура представляет собой комплекс дрожжей, молочнокислых, уксуснокислых бактерий. Которая имеет много иммуностимулирующих свойств. Кефир, образованный тибетским грибом богат витаминами (А, В1, В2, В6, В12, D, РР), неорганическими и органическими веществами (Са, Fe, I, Zn, спирт, фолиевая кислота, ферменты, легко усваиваемые белки, полисахариды). В 100 гр. кефира содержится: витамина А до 0,12 мг.; витамина В1 около 0,1 мг.; витамина В2 до 0,3 мг.; каротиноидов до 0,06 мг.; ниацина (РР) около 1 мг. витамина В6 до 0,1 мг.; витамина В12 около 0,5мг.; кальция 120 мг.; железа около 0,1 –0,2 мг.; йода около 0,006 мг.; цинка около 0,4 мг.[3, с 48-53]

**«Актуальные вопросы разработки пробиотиков, пребиотиков, метабиотиков и приоритетные направления их применения»: научно-практическая конференция с международным участием**

Приготовление кефира. Приготовление кефира осуществляют на молоке. Молоко кипятят. Кефирные грибки помещают в кипячёное молоко, охлаждённое до комнатной температуры. Через несколько часов закваску с грибом процеживают через сито. Грибки, оставшиеся в сите помещают в свежее, кипячёное молоко. Из 220г молочного гриба получается 2,3л кефира. В настоящее время кефир вырабатывается в промышленных масштабах, а его качество характеризуется требованиями ГОСТ 31454-2012 «Кефир». Данный продукт представляет собой сложную систему, включающую помимо веществ, являющихся результатом молочнокислого и спиртового брожения, также живые клетки молочнокислых бактерий, дрожжевые грибки и их метаболиты.[5, с 382-390]

Анализ сырья молочного гриба:

Водное извлечение из культуры гриба дает положительный результат при проведении реакций на аминокислоты и пептиды:

- 1) биуретовая проба
- 2) реакция с раствором нингедрина
- 3) ксанопротеиновая реакция
- 4) бумажная хроматография
- 5) система растворителей МУВ

После обработки хроматограмм р-м нингидрина, выявлено 7 зон адсорбции, соответствующих аминокислотам разной полярности

Результаты анализов.

Таблица 1

Виды микроорганизмов	Виды микроорганизмов у пациента	
	До употребления кефира	После употребления кефира в течении месяца
Бифидобактерии	$10^8$	$10^9$
Лактобактерии	$10^5$	$10^7$
Энтеробактерии	$10^9$	$10^5$
Е.Coll типичные	$10^9$	$10^7$
Е.Coll лактозонегативные	0	0
Е.Coll гемолитические	0	0
Другие условно-патогенные энтеробактерии	$10^5$	$10^3$
Стафилококк золотистый	0	0
Стафилококк (сапрофитный, эпидермиальный)	0	0
Дрожжевые грибы рода Candida	0	0
Неферментирующие бактерии	0	0
Клостридии	0	0

У пациента, после месячной терапии кефиром, наблюдалось существенное улучшение состояния микрофлоры кишечника (см. Таблицу 1), что подтверждается результатами анализов, вследствие чего мы можем сделать вывод, что и иммунитет также улучшился.

**Выводы:** Употребление кефира, полученного с помощью кефирного гриба, значительно улучшает состояние желудочно-кишечного тракта, нормализует работу кишечника. Кроме того, кожа приобретает здоровый цвет, различные кожные высыпания, угревая сыпь, исчезает или значительно уменьшается, волосы приобретают здоровый блеск, ногти становятся гладкими и плотными, менее ломкими. И главное: организм становится невосприимчивым ко многим вирусным сезонным заболеваниям или они протекают в легкой форме, что особенно актуально в наше время.

#### Список литературы

1. Буторина О. Чайный гриб и Тибетский молочный гриб. Ростов-на-Дону: Феникс. 2006. –31 с.
2. Елинов Н.П., Ларина О.Г. Микробиота природной ассоциации “ тибетский рис” - Проблемы медицинской микологии-1999.- Том.1, No1 -С. 51-56.
3. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т.1: Микрофлора человека и животных и ее функции. –М.: Грантъ, 1998. –286 с.
4. Коршунов, В.М. Проблемы регуляции микрофлоры кишечника // Микробиология. –1995. –No3. –С. 48–53.
5. Позняковский, В.Н. Гигиенические основы питания. –М.: Изд- во МГУ,1998. –447 с.