

# Застосування *Yarrowia lipolytica* в авіакосмічній галузі

Українська А.О.

науковий керівник: Дrajнікова А.В.

Кафедра біотехнології,

Науково-навчальний інститут екологічної безпеки

Національний авіаційний університет,

Київ, Україна

[ukrainska\\_anna@ukr.net](mailto:ukrainska_anna@ukr.net)

**Анотація** — робота присвячена визначенню шляхів застосування дріжджів *Y. lipolytica* в авіакосмічній галузі. Визначено спектр місць існування дріжджів в кліматичних умовах України. Проведено аналіз міжнародного досвіду застосування ліпідопродукуючих дріжджів у різних галузях. Запропоновано використовувати біотехнології на основі культивування ліпідопродукуючих дріжджів як один із шляхів екологізації авіакосмічної галузі.

**Ключові слова** — ліпідопродукуючі дріжджі, *Yarrowia lipolytica*, лимонна кислота, біодизель, гліцерин, біопаливо.

## I. ВСТУП

Зі стрімким розвитком авіакосмічної галузі, як в Україні, так і в усьому світі, постає завдання пошуку відновлюваних та екологічно безпечних джерел енергії. Широкого впровадження набуває використання біопалива як компонента авіаційного та ракетного палива. Біопаливо – це вид палива, яке отримано з біологічних матеріалів. Його виробництво може здійснюватися шляхом переробки рослинних чи тваринних матеріалів, продуктів життєдіяльності організмів та відходів промисловості [1].

У авіакосмічній галузі в якості біопалива використовують: біодизель, біоетанол, біобутанол, біометан, біоводень та ін. Одним з пріоритетних напрямків розробки технологій отримання біопалива є використання ліпідопродукуючих дріжджів *Yarrowia lipolytica* (Харрісон 1928).

Дріжджі *Y. lipolytica* є одноклітинними еукаріотичними мікроорганізмами. Вони належить до диморфних дріжджів та здатні до статевого та нестатевого розмноження [2]. *Y. lipolytica* широко поширена в природі. Може бути легко виділена із різних джерел, що містять вуглеводи та ліпіди, наприклад: жирна їжа, молокопродукти, салати з м'ясом та м'ясні продукти. Також може бути виділена із стічних вод, відходів сільського господарства та водойм, забруднених нафтою, а також із ґрунту. Для більшості штамів оптимальна температура росту становить 32-34 °С, тому вони не є патогенами і відповідно безпечні для здоров'я та життєдіяльності людей.

## II. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Мета роботи полягає у пошуку нових безпечних та ефективних методів використання дріжджів для екологізації авіакосмічної промисловості, що можливо методами біотехнології. Для цього важливим є визначити спектр місць існування дріжджів *Y. lipolytica* в кліматичних умовах України, а також здійснити аналіз міжнародної практики застосування ліпідопродукуючих дріжджів у різних галузях. Необхідно також визначити сфери застосування дріжджів *Y. lipolytica* та їх метаболічних продуктів в авіаційній та космічній галузях.

## III. ОСНОВНА ЧАСТИНА

Дріжджі *Y. lipolytica* можуть бути виділені з природних місць існування в кліматичних умовах України та є широко поширеними на її території. У якості найбільш оптимальних субстратів для виділення *Y. lipolytica* можуть виступати: ґрунт, молочні та м'ясні продукти.

Міжнародна практика показує великі перспективи щодо використання дріжджів у авіакосмічній галузі та промисловості загалом. Сучасні наукові дослідження спрямовані на створення біологічних систем, що дозволять здійснити екологізацію промисловості, а також скоротити витрати та інтенсифікувати виробництво. Значний розвиток у цьому напрямі демонструють дослідники з США. Команда Бленнера з Клемсонського університету створила біологічну систему із декількох штамів дріжджів *Y. lipolytica*, яку космонавти зможуть використовувати під час космічних місій для виробництва пластику чи ненасичених жирних кислот. Для росту дріжджі потребують джерело вуглецю та азоту, які можуть бути отримані з відходів життєдіяльності космонавтів. Виявлено, що один із штамів цієї біосистеми здатний до вироблення омега-3-поліненасичених жирних кислот, які необхідні космонавтам в умовах довгих польотів, адже ці кислоти сприяють покращенню роботи серця, мозку та очей. Інший штам *Y. lipolytica* було модифіковано таким чином, що дріжджі отримали здатність до зв'язування мономерів у полієфірні сполуки, які використовуються у 3D-друці для виробництва пластикових деталей. Для виробництва пластику геном *Y. lipolytica* був змінений з використанням технології, близької до CRISPR/Cas9. В результаті дріжджі *Y. lipolytica* починають виробляти гранули полістеролу,

замість типових молекул карбону. Використання цієї біосистеми дозволить створювати пластикові деталі безпосередньо під час космічних подорожей, що надає можливість значно зменшити вагу вантажів на космічному кораблі, а також забезпечить космонавтів необхідними ненасиченими жирними кислотами [4].

Іншою важливою характеристикою дріжджів *Y. lipolytica* є їх потенційна здатність до продукування аспарагінази, яка використовується для створення їжі без акриламиду, а також для лікування гемопоетичних захворювань та як біосенсор для діагностування лейкемії [3]. Індійськими вченими Каранам та Медіхерла було запропоновано метод оптимізації виробництва аспарагінази шляхом культивування дріжджів *Y. lipolytica* на пальмовій олії у якості субстрату [5]. Дослідженням було встановлено вплив трьох факторів на синтез та активність аспарагінази дріжджів. Визначено, що максимальна активність ферменту спостерігається при концентрації глюкози 11,5-12,5 % та вологості субстрату близько 60 % та підвищеному вмісту аспрагіну. Максимальна активність аспарагінази за таких оптимальних умов складала 40 од/г початкового сухого субстрату.

Не менш важливою характеристикою дріжджів *Y. lipolytica* є можливість їх використання у якості потенційного продуцента лимонної кислоти, адже вони мають декілька переваг, порівняно з іншими мікроорганізмами, які використовуються у цьому процесі. Дріжджі *Y. lipolytica* мають ширший спектр субстратів для культивування та меншу чутливість до концентрації важких металів, а також вищий вихід продуктів. Процес синтезу лимонної кислоти проходить у декілька фаз: в першій фазі відбувається активний ріст культури дріжджів та споживання лімітуючого субстрату. На цій фазі синтез лимонної кислоти майже не відбувається. У другій фазі починається активний синтез лимонної кислоти, після переходу культури дріжджів в стаціонарну фазу, внаслідок зниження вмісту азоту [3]. Фатихова А.Р. запропонувала використовувати гліцерин у якості субстрату для культивування дріжджів *Y. lipolytica*. Цей метод дозволяє одночасно вирішити проблему утилізації гліцерину як побічного продукту у виробництві дизелю. Ефективний процес синтезу лимонної кислоти триває лише 6 діб, надалі продуктивність культури поступово знижується внаслідок різкого зниження метаболічної активності клітин та інгібуючої дії високої концентрації лимонної кислоти. Перспективним шляхом підвищення тривалості процесу є запропонований метод культивування з використанням мембранного біореактора. Це дозволить видаляти накопичені продукти метаболізму, щоб попередити кислотне інгібування, та подавати субстрат для підтримки культури мікроорганізмів в стаціонарній фазі. За таких умов тривалість інтенсивного кислотоутворення може бути збільшена до 12 діб. Отримана таким чином лимонна кислота може бути використана замість небезпечної нітратної кислоти для пасивації поверхні літальних апаратів перед нанесенням захисної плівки [6].

Широко досліджено здатність *Y. lipolytica* до продукування ліпідів вміст яких може досягати 40 % від сухої маси клітин. Отримані ліпіди можуть бути

використані як компонент у виробництві біодизелю. Розроблено метод синтезу лінолевої кислоти шляхом генетичної трансформації дріжджів *Y. lipolytica* з використанням гену D12 (FADS12, d12) з *Mortierella alpina*. У рекомбінантних штамів дріжджів вихід лінолевої кислоти становить 44 % від загальної кількості синтезованих ліпідів. Спряжена лінолева кислота має корисні властивості для здоров'я людини, такі як: антидіабетичні, антиатерогенні, використовується для профілактики онкологічних захворювань та ожиріння, а також як імуномодулятор [3].

Алі Абгхарі та Шулін Чен запропонували метод генетичної модифікації *Y. lipolytica* для одночасного синтезу лимонної кислоти та ліпідів на гліцерині у якості субстрату. Вихід лимонної кислоти, синтезованої рекомбінантними штамми *Y. lipolytica*, становив 45 г/л, а ліпідів – 3,15 г/л [7].

#### IV. ВИСНОВКИ

У роботі було визначено спектр місць існування дріжджів *Y. lipolytica*. Найбільш оптимальними можна вважати ґрунт, молочні та м'ясні продукти. Проведено аналіз міжнародної практики застосування ліпідопродукуючих дріжджів у різних галузях промисловості. Встановлено, що найбільш ефективним є застосування дріжджів *Y. lipolytica* у якості продуцентів ліпідів для виробництва біодизелю. Визначено сфери застосування дріжджів *Y. lipolytica* та їх метаболічних продуктів в авіаційній та космічній галузях: виробництво пластику, отримання біодизелю з використанням ліпідів, продуктованих *Y. lipolytica*, пасивація поверхонь літальних апаратів з використанням синтезованої дріжджами лимонної кислоти, виробництво ненасичених жирних кислот.

#### Список використаних джерел

- [1] A. Scragg. Biofuels, production, application and development / A. Scragg., 2009.
- [2] Barth G, Gaillardin C Physiology and genetics of the dimorphic fungus *Yarrowia lipolytica*/ Barth G, Gaillardin C., 1997 FEMS Microbiol Rev 19(4):219–237
- [3] Farshad Darvishi Harzevil. Biotechnological Applications of the Yeast *Yarrowia lipolytica* / Farshad Darvishi Harzevil., 2014.
- [4] Urine space and need new parts? Researchers breathe life into space-made objects [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <http://newsstand.clemson.edu/mediarelations/urine-space-and-need-new-parts-researchers-breathe-life-into-space-made-objects/>.
- [5] Application of Doehler Experimental Design for the Optimization of Medium Constituents for the Production of L-asparaginase from Palm Kernel Cake (*Elaeis guineensis*) [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://www.omicsonline.org/application-of-doehlert-experimental-design-for-the-optimization-of-medium-constituents-for-the-production-of-l-asparaginase-from-palm-kernal-cake-elaeis-guineensis-1948-5948.1000016.php?aid=940>.
- [6] Фатыхова А. Р. Биосинтез лимонной кислоты дрожжами *Yarrowia lipolytica* из глицерин-содержащих отходов производства биодизельного топлива: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / ФАТЫХОВА АЛИНА РИНАТОВНА – Пушино, 2011.
- [7] Engineering *Yarrowia lipolytica* for Enhanced Production of Lipid and Citric Acid [Електронний ресурс]. – 2017. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.mdpi.com/2311-5637/3/3/34/htm>.

# Ресурсо- та енергозберігаюча система водопостачання Національного авіаційного університету

Ковальчук А.С., Кузьміна Л.П.

науковий керівник: Горупа В.В.

Кафедра біотехнології,

Навчально-науковий інститут екологічної безпеки,

Національний авіаційний університет,

Київ, Україна

[kovalchuk7anna@gmail.com](mailto:kovalchuk7anna@gmail.com), [ljubasja27@gmail.com](mailto:ljubasja27@gmail.com)

**Анотація** — у роботі розроблений проект сучасної системи водопостачання великого університетського кампусу, Національного авіаційного університету. Пропонується створення комбінованої системи водопостачання, в якій основним джерелом водопостачання є очищена дощова вода. На прикладі ангара (корпус 11) Національного авіаційного університету проведені розрахунки проектної потужності системи водопостачання та створена апаратна схема.

**Ключові слова** — атмосферні опади, система водопостачання, очищення води, водонапірна башта, технічна вода.

## I. ВСТУП

У східних та південних регіонах України проблема водопостачання міст має надзвичайно велике значення. Нестача води та високі тарифи на її використання в Україні та в розвинутих країнах змушує створювати альтернативні системи водопостачання з використанням дощової води. Впровадження таких систем добре вписується в актуальну політику держави щодо охорони довкілля.

В Японії системами збору дощових вод обладнано криті стадіони в Токіо, Фукуока і в Нагоя. Дощова вода з дахів після відповідного очищення скеровується до змивного обладнання на поливання газонів на стадіонах. Система збору дощової води використовується також і в аеропорту Дрездена, вона забезпечує водою зливні баки терміналу аеропорту та протипожежну систему.

Австралійські дослідники вперше провели аналіз медичних наслідків споживання дощової води і зробили висновок, що така вода безпечна для людського здоров'я. Експерти додають, що результати дослідження не можуть бути застосовні у всіх без винятку випадках, проте доводять відсутність явної шкоди для здоров'я від дощової води. Навіть у великих містах застосування дощової води для санітарно-гігієнічних потреб, де можна випадково ковтнути її у невеликій кількості, безпечно для організму. Екологи мають намір заохочувати жителів Австралії до використання дощової води як ресурсу в періоди засухи. Таким чином, при раціональному використанні дощової

води нею можна повністю забезпечити санітарно-гігієнічні потреби. Це дозволить неабияк зекономити кошти та природні ресурси [1].

## II. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Національний авіаційний університет (НАУ) — вищий навчальний заклад у Києві, в якому навчається понад 50 тисяч студентів. Територія університету становить 72 гектари, загальна площа навчальних корпусів — 140 тисяч квадратних метрів. Також до його складу входить Центр культури та мистецтв, студентське містечко, яке сьогодні налічує 12 гуртожитків, де проживають близько 7 тисяч студентів, центр харчування, авіаційний медичний центр, науково-технічна бібліотека, 2 музеї, навчально-спортивний оздоровчий центр [2]. Усі ці будівлі та споруди мають велику площу водозбору природних опадів, які можна та потрібно використовувати в системі життєзабезпечення університету. Наявність великої кількості корпусів навчального та житлового фонду вимагає значних витрат університету на комуні послуги. Одією з таких послуг є водопостачання.

В університеті вода використовується не тільки для питних та санітарно-гігієнічних потреб, також вона використовується для «озеленення» затишної території НАУ. Університет та відповідні служби в ньому добре дбають про зовнішній вигляд зелених насаджень, які в спекотну погоду потребують постійного поливу, що призводить до збільшення фінансових витрат на водопостачання.

НАУ користується центральним водогоном міста. Тарифи на воду встановлює ПрАТ АК Київводоканал. Із 2018 року ціна на холодне водопостачання та водовідведення становить 14.18 гривень за 1 кубічний метр води [3]. Тому в цілях економії коштів університету в роботі пропонується створити комбіновану систему водопостачання з природних опадів деяких навчальних корпусів.

## III. ОСНОВНА ЧАСТИНА

Атмосферними опадами називають воду в рідкому або в твердому стані, що випадає з хмар на землю.

Опади дають лише ті хмари, елементи яких зростають до таких розмірів, які не можуть утримуватися у завислому стані і під дією сили тяжіння падають на Землю, долаючи сили опору повітря і висхідні потоки [4].

В опадах не містяться органічні сполуки. Їх забруднювачами є іони неорганічних речовин. Нормальними вважаються опади з рН  $\approx 5,6$ .

На території України переважають такі іони в опадах:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ . У районах теплових електростанцій спостерігаються опади з іонами важких металів. Але поблизу НАУ їх не спостерігається.

Домінуючим типом опадів на більшій частині території України залишився сульфатно-гідрокарбонатний [5]. Виходячи з цього, підбираємо технологію очищення атмосферної води, яка представлена на рис. 1.

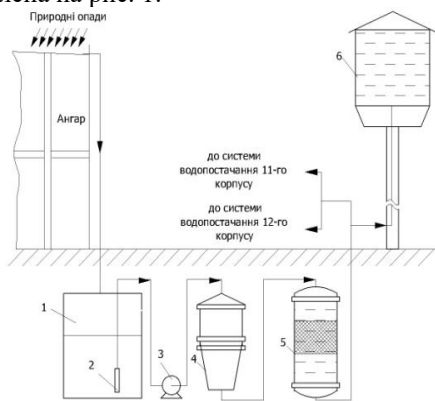


Рис 1. Принципова схема комбінованої системи водопостачання:

1 — приймальна буферна ємність; 2 — водозабір; 3 — насос для відкачування води; 4 — трубчастий відстійник; 5 — фільтр; 6 — водонапірна башта

На рис. 2 схематично зображена план-карта території НАУ. Земельну ділянку за 11 корпусом можна використати для будівництва підземних резервуарів та встановлення основних елементів системи очищення дощової води.

Систему водоочищення планується розташувати під землею поверхнею, що дозволить підтримувати температуру протягом року в діапазоні від  $+3^{\circ}\text{C}$  до  $+11^{\circ}\text{C}$ , таким чином взимку вода в системі не буде замерзати. Підземне розташування основних елементів не буде спотворювати закладений архітектурний ансамбль території університету.

Розмістивши систему поблизу 11 корпусу, вода з його даху самоплинно буде надходити в підземний резервуар. Очищена вода до 12 корпусу без великих зусиль буде надходити з водонапірної башти. Оскільки 11 корпус має 4 поверхи, то башту потрібно брати з висотою не менше 12 метрів, щоб забезпечити подачу води до всіх поверхів.

Довжина 11 корпусу разом з ангаром становить близько 150 метрів, а ширина — 60 метрів. Тоді площа його дорівнює 9000 квадратних метрів.

Згідно з даними українського Гідрометцентру міста Києва за рік випадає в середньому 640 міліметрів опадів. Кількість води, яку можна отримати з покрівлі ангару за рік та за місяць становить відповідно 5760

кубічних метрів та 480 кубічних метрів. Тому для системи потрібен підземний збірник для дощової води об'ємом 500 кубічних метрів.

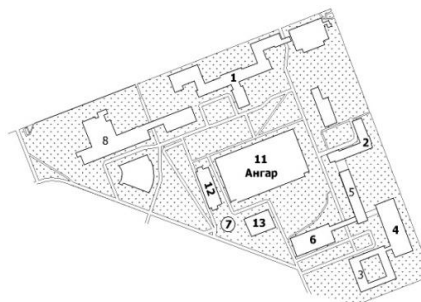


Рис. 2. Генеральний план території НАУ:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 11, 12 — навчальні корпуси університету; 7 — водонапірна башта; 13 — підземна ділянка для розташування системи очищення води.

Згідно з санітарними нормами у навчальних закладах в середньому для технічних потреб витрачається близько 8 літрів води за добу.

В 11 корпусі НАУ близько 120 кімнат, в яких навчаються або працюють в середньому по 10 чоловік. Знаючи кількість людей та середню норму споживання води, можна визначити добову норму споживання, яка буде становити не більше 9.6 кубічних метрів. За місяць норма споживання води буде 288 кубічних метрів. Проводячи аналогічні підрахунки, встановлено, що добове споживання води для санітарно-гігієнічних потреб у 12 корпусі НАУ становить 3.2 кубічних метрів за добу або 96 кубічних метрів за місяць.

#### IV. ВИСНОВКИ

Отже, виходячи з розрахунків, можна стверджувати, що взятої з покрівлі ангару 11 корпусу дощової води вистачить для санітарно-гігієнічних потреб студентів та працівників 11-го та 12-го корпусів. Річний обсяг економії коштів від реалізації цього проекту може становити 81676.8 гривень. Впровадження проекту буде популяризувати Національний авіаційний університет та підтверджувати рівень найкращого університету України.

#### Список використаних джерел

- [1] Інформаційна агенція. Рациональне використання дощової води: як це робиться в світі [Електронний ресурс] / Інформаційна агенція // Вголос. — 2013. — Режим доступу до ресурсу: [http://vgholos.com.ua/articles/ratsionalne\\_vykorystannya\\_do\\_shchovoi\\_vody\\_yak\\_tse\\_roblytsya\\_v\\_svitinbsp\\_108835.html](http://vgholos.com.ua/articles/ratsionalne_vykorystannya_do_shchovoi_vody_yak_tse_roblytsya_v_svitinbsp_108835.html).
- [2] Національний авіаційний університет [Електронний ресурс] — Режим доступу до ресурсу: [https://uk.wikipedia.org/wiki/Національний\\_авіаційний\\_університет](https://uk.wikipedia.org/wiki/Національний_авіаційний_університет).
- [3] Тарифи [Електронний ресурс] // ПрАТ АК Київводоканал. — 2017. — Режим доступу до ресурсу: <https://vodokanal.kiev.ua/tarifi>.
- [4] Атмосферні опади [Електронний ресурс] — Режим доступу до ресурсу: [http://npu.edu.ua/!ebook/book/html/D/!pgoe\\_kfg\\_Zagalne\\_zemleznavstvo\\_Voloshun/170.html](http://npu.edu.ua/!ebook/book/html/D/!pgoe_kfg_Zagalne_zemleznavstvo_Voloshun/170.html).
- [5] Національна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Україні у 1993 році. — К.: Книжкова друкарня наукової книги, 1994. — 309 с.



# Продуктування водню *Chlamydomonas reinhardtii*

Богданович Т. А., Гончаренко К. О.

Науковий керівник – Карпенко В. І., к.б.н., с.н.с., доц.

Кафедра біотехнології,

Навчально-науковий інститут екологічної безпеки

Національний авіаційний університет

Київ, Україна

bogdanovych\_tais@ukr.net

**Анотація** — досліджено процес утворення водню культурою *Chlamydomonas reinhardtii* після її переведення на безсіркове середовище в анаеробних умовах та визначення вмісту водню у отриманій газовій суміші за допомогою закритого платинового електроду типу Кларка.

**Ключові слова** — фотобіореактор, мікроводорості, фотосинтез, біофотоліз води, продуктування водню, фоторецепторні системи.

## I. ВСТУП

Біологічне продуктування молекулярного водню за рахунок фотосинтезу має ряд переваг у порівнянні з іншими способами отримання  $H_2$  і все більше привертає увагу дослідників як можлива альтернатива сучасним невідновлюваним технологіям отримання енергії. Перевагою біологічного отримання водню є низькі енергетичні витрати, особливо при виробництві з водоростей, що використовують сонячне світло як джерело енергії.

Незважаючи на те, що здатність еукаріотичних зелених водоростей генерувати молекулярний водень була описана Хансом Гаффроном ще в 1942 р., ефективні способи його продуктування ще не знайдені. Показано, що *Scenedesmus obliquus*, *Chlamydomonas moewusii*, *Chlamydomonas reinhardtii* та ін. представники Chlorophyta здатні виділяти водень. Одноклітинна зелена водорість *C. reinhardtii* стала головним об'єктом досліджень після того, як на початку 21 сторіччя А. Меліс, Т. Хаппе та ін. розробили спосіб індукції гідрогеназної активності у цього об'єкту без пригнічення його життєдіяльності [1].

## II. АНАЛІЗ СТАНУ ПРОБЛЕМИ

Актуальним напрямом сучасної енергетики є пошук альтернативних типів біопалива. Практично "чистим" поновлюваним джерелом можуть стати біологічні генератори водню, здатні до фотосинтетичної конверсії сонячного світла в  $H_2$ . Отримання водню водоростями має певні переваги: природне походження, ефективність і поновлюваність. Тому вважається, що його виробництво може стати комерційно привабливим і доповнити або замінити традиційні технології виробництва  $H_2$ .

Найбільш перспективними фотосинтезуючими організмами, здатними до виділення водню є зелені одноклітинні мікроводорості, гетероцистні ціанобактерії та пурпурні несірчані бактерії.

Нами було досліджено отримання водню продуцентом *Chlamydomonas reinhardtii* як перспективним фотосинтезуючим організмом. Ця водорість є добре вивченою, невибагливою до умов культивування і широко розповсюдженою у природі.

## III. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Культивування водорості *C. reinhardtii* проводили в колбах Ерленмейера на трис-ацетат-фосфатному безсірковому середовищі (TAPS), склад якого відрізняється від стандартного середовища TAP тим, що у ньому сульфати замінені хлоридами в тій же концентрації. Використовували трис-ацетатний та фосфатний буфер, pH 7,0.

Вміст водню виміряли за допомогою закритого платинового електроду з тефлоновою мембраною типу Кларка у саморобній електрохімічній комірці. Катодом слугував платиновий електрод площею 20  $mm^2$ , ретельно відполірований. В якості електроду порівняння використовувався хлоросрібний електрод. Електродний потенціал такої системи  $\phi_0 = -0,22$  V за водневою шкалою, який не змінюється в часі. Виміри ведуться в об'ємі електроліту (насичений KCl). Концентрація водню в електроліті знаходиться в рівновазі з концентрацією в навколишньому середовищі. Максимальний струм (струм насичення) при реакції  $H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$  становить близько 20  $\mu A$  на 1  $mm^2$  поверхні електроду. Максимальна чутливість системи у вузькому нижньому діапазоні концентрацій (до 20  $\mu M$ ) досягалася за рахунок мінімізації опору електроліту (KCl + HCl або  $H_2SO_4$ ). Напругу на електрод подавали від трансформаторного блока живлення 9V через стабілізатор напруги, збудований на мікросхемі NY7805C (і шунтуючий змінний опір R2 номіналом 407 Ом. Вимірювальний опір R3 становив 50  $k\Omega$ . Для запису даних на комп'ютер використовували мультиметр UT60E (Корея). Максимальна частота оцифровування даних – 3 Гц, максимальна чутливість за напругою – 0,1 мВ.

## IV. ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З літературних джерел відомо, що для інтенсифікації процесу утворення водню культурою *Chlamydomonas reinhardtii*, найшвидшим і економічно виправданим способом є її культивування на безсірковому середовищі в анаеробних умовах. При цьому в клітинах переривається світлова фаза фотосинтезу внаслідок пошкодження білка D1 другої фотосистеми. Після встановлення повного анаеробіозу активується робота фередоксин-залежних гідрогеназ. Механізми цього явища були з'ясовані лише після 1999 року, коли вчені в Берклі (UC Berkeley) виявили, що при нестачі сірки та кисню у водоростей процеси фотосинтезу різко послаблюються і розпочинається активне виділення водню. Проте цих даних було недостатньо для повного розуміння процесу біофотолізу зеленими водоростями та практичного застосування феномену фотопродуктування водню.

Фотопродуктування  $H_2$  може бути забезпеченим двома різними шляхами електронного транспорту.

Перший залежить від ФСП і включає фотоліз води в якості джерела електронів для ФСІ, фередоксин і Fe-гідрогеназу. Другий не залежить від ФСП і використовує катаболізм ендогенних органічних сполук (наприклад крохмаль) у якості джерела енергії, необхідної для відновлення протонів до H<sub>2</sub>. Для обох шляхів, залежного і незалежного від ФСП, вивільнення H<sub>2</sub> сприяє частковому окисленню фотосинтетичного транспортного ланцюга в анаеробних умовах і, отже, збереженню базального рівня хлоропластного та мітохондріального електронного транспорту, що забезпечує генерацію АТФ, необхідну для виживання.

Мікрородорості *C. reinhardtii* здатні синтезувати дві Fe-залежні гідрогенази *hydA1* (*hydrogenase A1*) та *hydA2* (Forestier et al., 2003), що мають високу активність та синтезуються за анаеробних умов. Ці ферменти надзвичайно чутливі навіть до незначної кількості кисню [2].

Розділення у часі процесів виділення кисню та водню може відбуватися, якщо для мікрородоростей створити стресові умови шляхом вилучення сірки [3]. Усунення такого важливого компонента поживного середовища як сірка сприяє переходу мікрородорості від фотоавтотрофного до фотогетеротрофного типу живлення, в результаті чого водорості стають здатними підтримувати фотозалежне утворення водню протягом близько чотирьох діб, що свідчить про потенціал цих організмів до продукування значної кількості водню [4].

Після видалення сірки з середовища культивування культура водоростей послідовно змінює свій фізіологічний стан. Вирізняють 5 етапів трансформації фізіологічного стану клітин за умов сірчаного дефіциту: після початкового аеробного стану (1) водорості переходить до споживання O<sub>2</sub> (2), потім в анаеробний стан (3), якій змінюється станом продукування H<sub>2</sub> (4), і термінальної фазою (5).

Втрата сірки клітинами *C. reinhardtii* супроводжується як загальною, так і специфічною реакціями. Загальна реакція на усунення макроелемента включає зменшення росту і поділу клітин, збільшення синтезу запасних вуглеводів, модулювання основних метаболічних процесів, в тому числі зниження інтенсивності фотосинтезу.

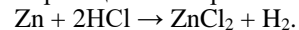
Специфічна реакція включає підвищення синтезу SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-транспортерів, гідролітичних ферментів, перехід на функціональні аналоги сірковмісних білків ФСП. Оскільки кисень продовжує споживатися мітохондріями, а новий не утворювався внаслідок світлозалежного розкладання води, в клітинах водорості швидко настає анаеробіоз [5], який спричиняє активацію ферментів гідрогеназ *hydA1* та *hydA2*, про що свідчить виявлення відповідних функціональних білків вже після 3-4 годин культивування без сірки (Forestier et al., 2003), акумуляція крохмалю призупиняється і змінюється його деградацією [5], і виділення водню, починаючи з 5 години такого культивування [6].

Крохмаль у зелених водоростей міститься в хлоропласті: щільні крохмальні гранули оточують базально розташований піреноїд. Лібеззар зі співавт. показали, що структура (вміст амілози) та склад крохмалю в клітинах *C. reinhardtii* різко змінювалися залежно від умов культивування [7]. Надмірне накопичення крохмалю спостерігається на початкових стадіях переведення культури мікрородоростей на безсіркове середовище, тоді як інтенсивне розкладання крохмалю – на пізніх етапах. Більшість дослідників

вважають, що виділення водню прямо пропорційно залежить від кількості накопиченого крохмалю в клітині мікрородорості.

Слід зазначити, що всі результати, про які повідомлялося вище, були зроблені з водоростями, які зростали в присутності ацетату. Але Циганков та ін. показали, що фотоавтотрофна культура може виробляти H<sub>2</sub> постійно без ацетату за умов дефіциту сірки і продувки CO<sub>2</sub>.

Після одного тижня культивування на безсірковому середовищі в анаеробних умовах було виміряно вміст водню за методикою, представленою у матеріалах і методах. Для знаходження відсоткового вмісту водню у газовій суміші отримані результати порівнювалися із результатами вимірювання напруги від отриманого чистого водню за реакцією в апараті Кіппа:



Отриманий у результаті реакції водень був прийнятий за 100%. Падіння напруги у цьому випадку було 0,074V, а падіння напруги від суміші газів, продукованих культурою *Chlamydomonas reinhardtii* після тижня культивування на безсірковому середовищі у першій колбі: 0,067V, та у другій: 0,061V що таким чином становить 90,54% та 82,43% відповідно від чистого водню отриманого в результаті реакції в апараті Кіппа.

## V. ВИСНОВКИ

Водень, як екологічно безпечний та економічно перспективний вид палива, безумовно має привабливе значення для використання. Одним з продуцентів цього біопалива є зелена водорість *Chlamydomonas reinhardtii*. При переведенні культури на безсіркове середовище в анаеробних умовах процеси фотосинтезу різко послаблюються і розпочинається активне виділення водню. В клітинах переривається світлова фаза фотосинтезу внаслідок пошкодження білка D1 другої фотосистеми. Після встановлення повного анаеробіозу активується робота фередоксин-залежних гідрогеназ. Вимірювання за допомогою закритого платинового електроду типу Кларка показали, що відсотковий вміст водню у отриманій газовій суміші становив 90,54% (1) та 82,5% (2).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1] Melis A, Happe T. Hydrogen production. Green algae as a source of energy. *Plant Physiol* 2001;127: 740 – 748.
- [2] Forestier M., King P., Zhang L. et al. Expression of two [Fe]-hydrogenases in *Chlamydomonas reinhardtii* under anaerobic conditions // *Eur. J. Biochem.* – 2003. – V. 270, N 13. – P. 2750-2758.
- [3] Melis A. Photosynthetic H<sub>2</sub> metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii* (unicellular green algae) // *Planta.* – 2007. – V. 226. – P. 1075-1086.
- [4] Seibert M., King P.W., Posewitz M.C. et al. Photosynthetic water-splitting for hydrogen production // *Bi-oenergy* / Ed. J. Wall. – Washington, D.C.: ASM Press, 2008. – P. 273-291.
- [5] Антал Т. К., Кренделева Т. Е., Лауринавичене Т. В. и др. Связь активности фотосистемы 2 микрородо-рослей *Chlamydomonas reinhardtii* с выделением водорода при серном голодании // Докл. АН [Россия]. – 2001. – Т. 381, № 1. – С. 119-122.
- [6] Tsygankov A., Kosourov S., Seibert M. et al. Hydrogen photoproduction under continuous illumination by sulfur-deprived, synchronous *Chlamydomonas reinhardtii* cultures // *Int. J. Hydrogen Energy.* – 2002. – V. 27. – P. 1239-1244.
- [7] Libessart N., Maddelein ML., van den Koornhuysse N. et al. Storage, photosynthesis and growth: the conditional nature of mutations affecting starch synthesis and structure in *Chlamydomonas reinhardtii* // *Plant Cell.* – 1995. – V. 7. – P. 1117-1127.

# Вивчення фізіолого-біохімічних особливостей фотолітогетеротрофних мікроорганізмів

Сибірєва В.А.

науковий керівник: Карпенко В.І., к.б.н., с.н.с., доц.  
Кафедра біотехнології,  
Навчально-науковий інститут екологічної безпеки  
Національний авіаційний університет,  
Київ, Україна  
sybirova@gmail.com

**Анотація** — робота присвячена темі використання вивчення метаболізму фотолітогетеротрофів.

**Ключові слова** — фотолітогетеротрофи, геліобактерії, сірчані пурпурні бактерії, *Heliobacterium chlorum*, бактеріохлорофіл g.

## I. ВСТУП

Завданням даної роботи є вивчення фотолітогетеротрофів. Це група мікроорганізмів для яких джерелом енергії є сонячне світло, джерелом електронів є неорганічні сполуки, а джерелом вуглецю – органічні сполуки. До фотолітогетеротрофів відносяться пурпурні сірчані бактерії та геліобактерії.

## II. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Останнім часом вчені з різних країн все більше звертають свою увагу на вивчення фізіолого-біохімічних особливостей фотолітогетеротрофних мікроорганізмів, а також питання їх ролі та значення на планеті. У зв'язку з цим ми провели власне дослідження у вивченні цих питань, що стосуються фотолітогетеротрофних мікроорганізмів.

## III. ОСНОВНА ЧАСТИНА

Клітини фотолітогетеротрофів, які були вивчені, є паличкоподібними ( геліобактерії ), нитчастими ( ціанобактерії ), спіральними, яйцеподібними мікроорганізмами. Паличкоподібні *Heliobacterium chlorum* (довгі одиночні палички) можуть передвигатися сковзанням, а *Heliobacillus mobilis* ( короткі ) за допомогою джгутиків, які розміщені по всій поверхні клітини. Усі бактерії, що належать до фотолітогетеротрофів є грамнегативними, але геліобактерії по нуклеотидній послідовності та складу пептидоглікана близькі до грампозитивних *Bacillus subtilis*. [1]

Геліобактерії - облігатні анаероби (бо хлорофіл g активується лише за наявності світла). Також можливе існування як мікроаерофілів при відсутності світла ( тоді вони проявляють здатність зброджувати піруват до ацетату). За відсутності світла можуть проявляти сірчане дихання. Відсутній цикл Кальвіна. [2] Геліобактерії мають здатність фіксувати азот. Клітини геліобактерій містять бактеріохлорофіл g в цитоплазматичній мембрані, який відрізняє їх за максимумом поглинання інфрачервоного світла(670-788 нм). [2] Саме завдяки цьому геліобактерії займають особливу екологічну нішу. Фотосинтез відбувається на клітинній мембрані.

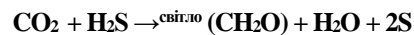
Клітинні стінки дуже тонкі, відсутня зовнішня мембрана клітини, муреїн близький за будовою до грампозитивного типу. Також відзначається відсутність

ліпосахаридів. Геліобактерії мають здатність формувати ендоспори з високим вмістом кальцію.

Геліобактерії розповсюджені в землі, особливо на рисових полях та заболочених ґрунтах.

Також особливу роль у цій групі мають пурпурні сірчобактерії. Пурпурні сірчані бактерії можуть бути різних форм(спірили, палички), є грамнегативні.

Пурпурні бактерії також є облігатними анаеробами, оскільки бактеріохлорофіл активний лише під дією світла. Саме наявність пігментів дає змогу використовувати світло в діапазоні від темно-червоного до фіолетового спектра. Пурпурні сірчані бактерії в якості донорів електронів використовують H<sub>2</sub>S, S<sub>0</sub> або органічні речовини. [3] Ці мікроорганізми засвоюють сірку з природних джерел, де вона знаходиться у формі неорганічних солей (сульфатів, сульфідів ) або елементарної сірки. Також доведено, що у процесі фотосинтезу ці бактерії виділяють сірку в якості побічного продукту. У результаті реакції всередині клітин бактерій накопичують частинки сірки. Ван Ніль виявив, що рівняння фотосинтезу для цих бактерій може бути записане так:



Більшість видів є мезофілами та психрофілами ( можуть розмножуватися при температурі +5). До психрофілів належать такі мікроорганізми як *Amoebobacter* і *Lamprocystis*. В основному є нейтрофілами (ростуть при нейтральному рівні рН). Деякі види можуть утворювати цисти та ендоспори. [4] Пурпурні сірчані бактерії мають особливість - здатність відкладати сірку в цитоплазмі; також є азотфіксаторами. Пурпурні сірчані бактерії в основному є мешканцями водойм, рідше - ґрунтів.

## IV. ВИСНОВКИ

У роботі проведено аналіз наукових робіт та міжнародного досвіду щодо вивчення фотолітогетеротрофних мікроорганізмів.

### Список використаних джерел

- [1] <http://medbiol.ru/medbiol/microbiol/00044e01.htm>
- [2] Нетрусов, Котова, 2012, с. 194.
- [3] Гусев М.В, Минеева Л.А. Микробиология. — 4-е издание, стереотипное. — Москва: Издательский центр «Академия», 2003. — 464 с.
- [4] Нетрусов А. И., Котова И. Б. Микробиология. — 4-е изд., перераб. и доп.. — М.: Издательский центр «Академия», 2012. — С. 46. — 384 с

# Fermentation of microorganisms for production of succinic acid

Kirilova Anastasiya

Supervisor O.O. Kuznetsova Ph.D., docent.

National Aviation University

Kyiv, Ukraine

a.a.kirilova12@gmail.com

**Summary - purpose of this study was to determine methods of succinic acid production from microorganisms and identify cost-effective methods for its producing.**

**Key words— fermentation, microorganism, succinic acid**

## I. INTRODUCTION

The global succinic acid market is segmented on the basis of applications. Succinic acid has a wide variety of applications, which include industrial applications (57.1%), pharmaceuticals (15.91%), food and beverages (13.07%), and others (13.92%). [1] All these applications have a huge growth potential, which is ultimately driving the growth of the succinic acid market. That's why should be improved the production of succinic acid not only by chemical synthesis, but also biological.

## II. BIOLOGICAL SYNTHESIS OF SUCCINIC ACID

Succinic acid can be produced biologically in the following three pathways: the TCA cycle or Krebs cycle or citric acid cycle, the glyoxalate cycle, and the reductive TCA cycle. However, during the Krebs cycle and glyoxalate cycle, succinate does not accumulate in cells and further convert into other form; hence these cycles cannot be exploited for succinic acid production. Anaerobically, succinic acid is produced via the reductive arm of the TCA cycle, in which PEP (phosphoenol pyruvate) is converted into oxaloacetate (OAA), resulting in the formation of the end-products succinate and propionate. This requires the incorporation of four electrons and 1 mol of CO<sub>2</sub>. [1]

## III. PRODUCERS OF SUCCINIC ACID

Several anaerobic and facultative anaerobic bacteria that produce succinic acid from carbohydrates have been isolated from rumen and other sources. The fermentative production of succinic acid has been most intensively investigated; the best-known succinic acid producers include *Actinobacillus succinogenes*, *Mannheimia succiniciproducens*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, and recombinant *E. coli*. [1] Research has also been directed toward the production of succinic acid from fungi. There are many reports in which the fungi *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium viniferum*, *Byssoschlamys nivea*, *Lentinus degener*, and *Paecilomyces varioti* and yeast *Saccharomyces cerevisiae* [1] have been used for the production of succinic acid.

Super-synthesis succinic acid inhibition observed in the rate of growth of producers and blocking biosynthetic processes that require the participation acids as a substrate that is in violation of

existing processes dissimilation endogenous substrate and the synthesis of basic (nitrogen) components of the cell.

TABLE 1. COMPARISON OF SUCCINIC ACID YIELD AND PRODUCTION CONDITIONS FROM VARIOUS MICROBIAL SOURCES.

Microorganism Used	Production of Succinic Acid (g/L)	Productivity (g/L/h)	Substrate Used	Incubation Time (h)
<i>E. coli</i> NZN111	12-14	1.4	Glucogenic carbon source	10
<i>A. succinogenes</i>	53.2	1.21	Straw hydrolysate	48
<i>A. succinogenes</i> BE-1	15.8	0.20	Crop stalk waste	72
<i>Yarrowia lipolytica</i> Y3314	140	0.86	Complex medium at lower pH	72

Such conditions, as a rule, are full or excessive content in the source of carbon and energy and a shortage of nutrients limiting in cell growth [2]. From Table 1, we see that under these conditions, specially separated strains of yeast of the genus *Candida* synthesize succinic acid in large quantities in environments of minimal salts at lower pH.

## IV. CONCLUSION

An analysis showed that fermentation of microorganisms would require about 30-40% less energy than a typical chemical production process and so this will save the atmosphere from yet more carbon emissions. So it seems the process will be clean (no waste products), be environmentally friendly (capture CO<sub>2</sub>), and use a relatively cheap feedstock for production (glucose) to provide a cheaper source of succinic acid for a growing market.

## LIST OF REFERENCES

[1] Ashok Pandey, Sangeeta Negi, Carlos Ricardo Soccol, "Production, Isolation and Purification of Industrial Products", 5th Floor, Cambridge, MA 02139, United States, vol. A247, pp. 595-618, April 2017.

[2]. Сісецький А. М. ПРОМИСЛОВА БІОТЕХНОЛОГІЯ [Електронний ресурс] / Адам Миронович Сісецький. – 2006. – Режим доступу до ресурсу: <http://chem21.info/page/057213025251149201053056137119177030104116063029/>.



# Вплив електромагнітного випромінювання на вміст кверцетину в квітках кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale wigg.*)

Чабанюк Л. Л.

науковий керівник: Косоголова Л. О.  
Навчально-науковий інститут екологічної безпеки  
Національний авіаційний університет  
Київ, Україна  
milachabanyuk@gmail.com

**Анотація** — досліджено вплив електромагнітного випромінювання на вміст кверцетину в квітках кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale wigg.*). Встановлено найоптимальніший режим, за якого спостерігається збільшення кверцетину в екстракті.

**Ключові слова** — кульбаба лікарська, *Taraxacum officinale wigg.*, екстракція, флавоноїди, кверцетин, електромагнітне випромінювання, надзвичайно висока частота.

## I. ВСТУП

На сьогоднішній день лікарські рослини відіграють важливу роль в профілактиці та лікуванні захворювань. Кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale Wigg.*) – багаторічна трав'яниста рослина родини айстрових (*Asteraceae*). Кульбаба в народній медицині зустрічається досить часто. Квітки кульбаби лікарської мають свої корисні властивості, які дозволяють використовувати їх у харчовій та фармацевтичій промисловості.

Цінними компонентами лікарських рослин є біологічно активні речовини. Розглядаючи хімічний склад квіток кульбаби лікарської, можна сказати, що в них міститься велика кількість речовин таких як каротиноїди, холін, нікотинова кислота, сапоніни, тіамін, флавоноїди, терпенові спирти, а також мікроелементи. Необхідними та цінними речовинами є флавоноїди, до яких і відноситься кверцетин. Він є агліконом рутину і займає важливе місце серед антиоксидантів. Крім того, захищає від окислення аскорбінову кислоту і адреналін, продукти окислення яких здатні додатково активувати перекисне окислення ліпідів. Також кверцетин активує ферменти антиоксидантного захисту, які нормалізують ліпідний обмін при цукровому діабеті обох видів [3].

## II. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Не дивлячись на швидкий розвиток хімічної, фармацевтичної та харчової та промисловості лікарські рослини відіграють важливе значення в житті людини. Перспективним об'єктом дослідження залишається кульбаба лікарська та біологічно активні речовини, що містяться в ній.

Флавоноїди, в тому числі і кверцетин, мають широкий спектр біологічної дії: вони беруть участь в

окислювально-відновлювальних процесах, виконуючи антиоксидантні функції; поглинають УФ-світло; запобігають руйнуванню хлорофілу. Проявляють Р-вітамінну активність, жовчогінну, спазмолітичну, діуретичну, гіпоазотемічну, гіпоглікемічну, седативну, естрогенну та інші види фармакологічної дії [5].

Для отримання біологічно активних речовин на більшості підприємств широко застосовують технологію тривалого настоювання сировини з екстрагентом (водним або водно-спиртовим розчином з об'ємною часткою спирту 40–80%) [1]. Тому на сьогодні вченими розроблено широкий спектр методів, що сприяють інтенсифікації процесу екстракції. Серед них значне місце займають фізичні методи, в тому числі обробка електромагнітним випромінюванням [4].

## III. ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Рослинну сировину збирали навесні в м. Києві. Проби відбиралися в період масового цвітіння, коли у квітках накопичувалось найбільше біологічно активних речовин. Висушування сировини проводили за загальноприйнятими методами [2].

Для дослідження проводили екстракцію квіток кульбаби лікарської з подальшим опроміненням. Опромінення екстрактів проводили у стандартних умовах. Обробку електромагнітним випромінюванням (ЕМВ) проводили при надзвичайно високій частоті (57–68 ГГц) упродовж 5, 10, 15, 20, 25 хв. Контрольні зразки знаходились за таких же самих умов без опромінення. Після проведення опромінення в кожній досліджуваній та контрольній пробі визначали вміст флавоноїдів, а саме кверцетину за стандартними методиками [6].

Дослідження показали, що квітки кульбаби лікарської містять певну кількість біологічно активних речовин, в тому числі і кверцетин. Результати наведені в табл. 1.

ТАБЛИЦЯ I. Вплив електромагнітного випромінювання надзвичайно високих частот на вміст кверцетину в екстрактах квіток кульбаби лікарської

ЕМВ	Час опромінення, хв	Вміст флавоноїдів в екстрактах	
		Оптична густина	Флавоноїди, %
Надзвичайно висока частота (57-68 ГГц)	Контроль	0.091	0.0207±0.115
	5	0.094	0.0214±0.13
	10	0.105	0.0293±0.12
	15	0.122	0.0277±0.10
	20	0.093	0.0211±0.11
	25	0.090	0.0205±0.13

## Список використаних джерел

- [1] Безчаснюк Е. М. Процесс экстрагирования из лекарственного растительного сырья / Е. М. Безчаснюк, В. В. Дяченко, О. В. Кучер. – К.: Фармаком 1. – 2003. – С. 54–56.
- [2] Державна Фармакопея України (діюче видання) / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е видання. – Харків: РІРЕГ, 2001.
- [3] Ковалевська І. В. Дослідження вивільнення кверцетину з твердих дисперсій високомолекулярних речовин / І. В. Ковалевська, О. А. Рубан, В. О. Грудько – 36. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика: Технологія ліків та організація фармсправи. – 2015. – № 24(5). – С. 318-322.
- [4] Коничев А. С. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки / А. С. Коничев, П. В. Баурин // Вестник МГОУ. Серия естественные науки, 2011. – № 3. – С. 49-54.
- [5] Хімічний аналіз лікарської рослинної сировини, що містить флавоноїди [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: [http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/pharma\\_1/classes\\_stud/uk/pharm/prov\\_pharm/ptn/Фармакогнозія/3%20курс/16.%20Хімічний%20аналіз%20ЛРС,%20яка%20містить%20флавоноїди.htm](http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/pharma_1/classes_stud/uk/pharm/prov_pharm/ptn/Фармакогнозія/3%20курс/16.%20Хімічний%20аналіз%20ЛРС,%20яка%20містить%20флавоноїди.htm)
- [6] Цуркан О. О. Вміст біологічно активних речовин у надземній частині кульбаби лікарської залежно від фази вегетації / Цуркан О. О., Ковальчук Т. В., А. В. Гудзенко. – Тернопіль: Фармацевтичний часопис. – 2007. – № 4. – С. 25.

Були проведені дослідження вплив надзвичайно високої частоти (НВЧ-опромінення) на зразки зібрані у м. Київ. Встановлено, що при обробці екстрактів упродовж 5 хв кількість кверцетину становила 0,0214 %. Контрольна проба містить 0,0207 %. При збільшенні часу опромінення спостерігали збільшення і вмісту флавоноїдів. Так при 10 хв опроміненні міст становив 0,0239 %, при 15 хв – 0,0277 %. Далі при опроміненні спостерігалось зниження вмісту кверцетину, що видно на рис.1.

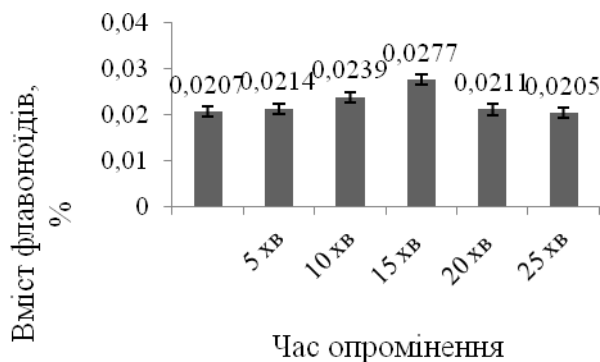


Рис.1 Вміст флавоноїдів в екстрактах кульбаби лікарської під впливом НВЧ-опромінення

Максимальна кількість кверцетину у зразках зібраних у м. Києва досягається при обробці впродовж 15-ти хвилин опромінення електромагнітним полем квіток кульбаби лікарської. Кількість кверцетину при цьому режимі збільшилась у 1, 34 рази по відношенню до контролю.

## IV. ВИСНОВКИ

Досліджено вплив електромагнітного випромінювання надзвичайно високої частоти на процес екстракції кверцетину з квіток кульбаби лікарської.

Виявлено, що кількість кверцетину в екстракті збільшувалась при опроміненні електромагнітним випромінюванням надзвичайно високою частотою (60 ГГц) тривалістю від 5 до 20 хв.

Встановлено, що при надзвичайно високій частоті (60 ГГц) найбільший ефект виявлено при 15-ти хвилинному опроміненні електромагнітним полем квіток кульбаби лікарської. Кількість кверцетину при цьому режимі збільшилась у 1, 34 рази по відношенню до контролю.

# Виділення чистої культури мікроорганізмів роду *Bifidobacterium* з біфідойогурту «Активія Данон»

Решетніков М.В.

Науковий керівник - Матвеева О.Л. к.т.н., професор кафедри екології

Навчально-науковий інститут екологічної безпеки

Національний авіаційний університет

Київ, Україна

nik.ies.503@gmail.com

**Анотація** — досліджено виділення чистої культури мікроорганізмів роду *Bifidobacterium* з біфідойогурту «Активія Данон». В роботі використано спосіб виділення чистих культур мікроорганізмів, який ґрунтується на природній резистентності біфідобактерій до певних груп антибіотиків, в порівнянні з мікроорганізмами, що містяться в біфідойогурті «Активія Данон».

**Ключові слова** — *Bifidobacterium*, біфідойогурт, чиста культура, виділення біфідобактерій., антибіотики.

## I. ВСТУП

Йогурти з живими культурами мікроорганізмів мають біологічні дії – стимуляція росту корисної мікрофлори шлунково-кишкового тракту, інгібування росту патогенної мікрофлори, антитоксичну дію, покращення всмоктування кальцію, фосфору [6].

Важливу роль у йогуртах з живими культурами займають біфідобактерії, які є нормофлорою товстого кишечника людини і переважають і дітей в перші роки життя [8].

За заявленнями виробників в йогуртах «Активія Данон» і «Галичина» містяться молочнокислі і біфідобактерії, а саме *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium* «Активія Данон», *Lacidophilus*, *Bifidobacterium*, *L.delbrueckii subsp.bulgaricus* в йогурті «Галичина» [9]. Але, згідно з науковими дослідженнями обраних йогуртів, дані, заявлені виробниками і кількість мікроорганізмів в продукті, не збігаються [2].

За науковими даними в «Активія Данон» переважають *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum* в кількості КМАФАнМ, КУО/г молочнокислі бактерії  $2 \cdot 10^5$ , біфідобактерій  $1 \cdot 10^1$ . В йогурті «Галичина» кількість КМАФАнМ, КУО/г – молочнокислі бактерії  $2 \cdot 10^6$ , біфідобактерій відсутні [2].

В наукових статтях, в яких досліджений мікробний склад біфідойогурту «Активія Данон», виявили окрім біфідобактерій *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*.

Отже, для виділення і подальших досліджень біфідобактерій, що містяться в йогуртах, дослідивши літературні дані щодо біфідойогуртів і виділення чистих культур, (дослідження велися за статистичними даними продаж на ринку України і лабораторними дослідженнями йогуртів на вміст молочнокислих і біфідобактерій [7].) для практичної роботи був відібраний біфідойогурт «Активія Данон».

## II. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Як відомо, чиста культура мікроорганізмів, це культура, яка містить мікроорганізмів одного виду. В даній роботі розглядається вид *Bifidobacterium*. Тобто, виділення однієї чистої культури мікроорганізму дозволяє вивчити її біохімічні, культуральні, морфологічні та інші ознаки, які при наявності асоціації виявити було складно або неможливо.

Основною метою виділення чистої культури мікроорганізмів роду *Bifidobacterium* з біфідойогурту «Активія Данон» є подальше дослідження виділеного штаму в лабораторних умовах для проведення лабораторних робіт і наукових дослідів.

Виділення *Bifidobacterium* з біфідойогурту «Активія Данон» мотивоване його природною стійкістю до антибіотиків а також зменшення впливу антибіотиків на інші мікроорганізми, що містяться в йогурті.

## III. ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Спосіб виділення чистої культури анаеробних мікроорганізмів ґрунтується на дослідженнях, в яких підтверджено, що біфідобактерії мають природню стійкість до певних груп антибіотиків, таких як аміноглікозиди, пеніциліни [4].

Одже для пригнічення *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, що містяться в біфідойогурті, були підібрані антибіотики, які пригнічують дані мікроорганізми і не впливають на ріст біфідобактерій [3].

В роботі використовувалися антибіотики (у концентраціях в поживному середовищах, що пригнічує ріст):

- *S. thermophilus* – стрептоміцин 800 мкг/мл;
- *L. bulgaricus* – ампіцилін 800 мкг/мл.

У лабораторному дослідженні використовувалося фабричне Біфідум - середовище, на якому за літературними даними спостерігається типовий ріст біфідобактерій і достатня для візуального підтвердження росту, кількість біомаси [1]. Біфідойогурт знаходився в допустимих термінах придатності до вживання..

Практичне дослідження проводилося за схемою, що наведена на рис.1. З біфідойогурту «Активія Данон» відібрано в стерильних умовах по 0.1 мл зразка в 3 пробірки з об'ємом 9 мл Біфідум - середовища, зразок йогурту мікро скопійовано за Грамом, 3 пробірки з внесеними зразками поміщені в термостат на 48 годин при 37°C. В трьох пробірках з накопичувальними культурами спостерігали культуральні характеристики: ріст білої пухкої маси, яка у вигляді комет проростала до дна, в

рідкому середовищі, маса крихка, маса розташована в верхній частині з ростом в глибину середовища. З 3 пробірок відбирався зразок для проведення фарбування за методикою Грам. Проведенодесятикратне розведення в стерильній воді і розведення  $10^7$ , внесено в пробірки з об'ємом середовища 9 мл з внесеними антибіотиками: стрептоміцин, ампіциліну концентрації 800 мкг/мл. В контрольну пробірку антибіотик не добавлявся. Пробірки поміщені в термостат на 48 годин при  $37^\circ\text{C}$ . При проведенні перевірки на культуральні характеристики вирослих культур виявлено характерний ріст біфідобактерій у формі комет, в мікроскопічному препараті виявлені клітини у формі роздвоєних грам позитивних паличок, розташованих окремо або у скученнях.

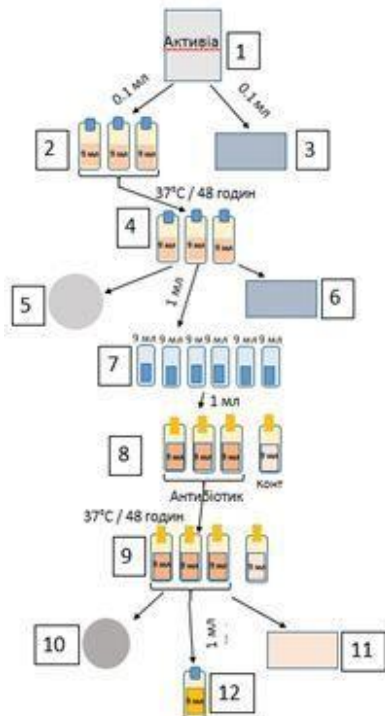


Рис.1. Схема проведення лабораторного дослідження з виділення чистої культури біфідобактерій: 1-досліджувальний матеріал, 2-накопичувальна культура, 3-мікророзведення, 4 - накопичувальна культура; 5-культуральні характеристики, 7-десятикратне розведення, 8-культура з антибіотиками, 9- культура з антибіотиками, 10- культуральні характеристики, 11-мікроскопування, 12 -чиста культура.

В результаті проведеної роботи було отримано накопичувальну культуру мікроорганізмів з біфідойогурту Біфідум– середовищі, в пробірки для накопичувальної культури антибіотик не добавляли, тому мікроскопіювання показало присутність *S. thermophilus* вигляді ланцюжків коків і *L. bulgaricus* палички (рис.2). При візуальному перегляді пробірок через 24 години культивування виявили по всьому об'єму середовища видиму білу пухку масу на поверхні і масу у формі комет, що проростала до дна пробірки. Через 48 годин пробірка повністю заросла білою пухкою масою. Після десятикратного розведення накопичувальної культури, було вибрано для посіву в пробірки з антибіотиком (розведення  $10^7$ ). Як було вже зазначено за літературними даними антибіотики мають подавляти ріст інших мікроорганізмів, окрім біфідобактерій. При візуальному перегляді отриманого нами натурального матеріалу (після 48 годин в термостаті за  $37^\circ\text{C}$ ) виявлено придонний

характерний ріст маси *Bifidobacterium*. Взятий зразок з пробірки для мікроскопіювання підтвердив велику кількість роздвоєних паличок, грам позитивно зафарбованих, нерухомих, споро не утворюючих (рис.2).

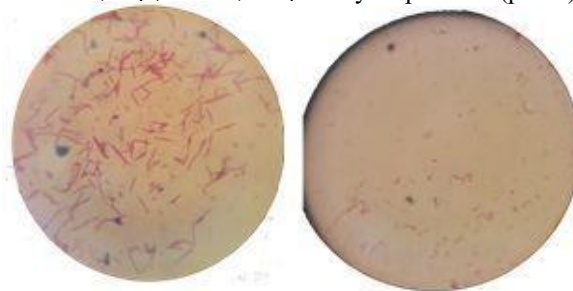


Рис.2. Мікрофотографія: a – накопичувальна культура b - культура з внесеними антибіотиками (x – 1000(a,b)).

#### IV. ВИСНОВКИ

В роботі наведені результати виділення чистої культури мікроорганізмів роду *Bifidobacterium* з біфідойогурту «Активія Danon» за допомогою антибіотиків. За літературними даними було доведено, що з мінімальними витратами часу можна виділити чисту культуру анаеробних мікроорганізмів *Bifidobacterium*. Також у роботі представлена схема процесу виділення чистої культури і результати мікроскопіювання препаратів контрольної групи посівів, та групи, в які добавлялися антибіотики. Наведена схема виділення анаеробних мікроорганізмів може використовуватися для лабораторних робіт в умовах навчальних лабораторій або для наукових досліджень мікроорганізмів роду *Bifidobacterium*.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1] Домотенко Л. В. Бифидум-среда для выделения и культивирования бифидобактерий / Л. В. Домотенко, А. Г. Шепелин. // Инфекция и иммунитет. – 2014. – №3. – С. 279–283.
- [2] Гавриляк М. Я. Дослідження пробіотичної мікрофлори йогуртів / М. Я. Гавриляк, У. Каблеш. // Товарознавчий вісник. – 2013. – №6. – С. 158–163
- [3] Акопян Л. Г. Сравнительное изучение влияния антибиотиков на молочнокислые и энтеробактерии / Л. Г. Акопян, Ю. Т. Алексанян. – 2009. – №4. – С. 56–60.
- [4] Щетко В. А. Головнева чувствительность бифидобактерий к антибиотикам различных классов / В. А. Щетко, Н. А. Головнева. // Вестник академии наук Беларуси. – 2014. – №2. – С. 103–106.
- [5] В Украине увеличилось производство молочной продукции: сколько и чего изготовили за год [Электронный ресурс] // УНИАН. – 2018. – Режим доступа до ресурсу: <https://economics.unian.net/agro/2364525-v-ukraine-uvlechilos-proizvodstvo-molochnoy-produktsii-skolko-i-chego-izgotovili-za-god.html>.
- [6] Хавкин А. И. Влияние продуктов питания, обогащенных пробиотиками, на функцию кишечника / А. И. Хавкин, Н. С. Жихарева. // ОБМЕН ОПЫТОМ. – 2002. – С. 99 – 100.
- [7] Анализ рынка молочной продукции Украины 2015- [Электронный ресурс] // Брендированное агентство KOLORO. – 2012. – Режим доступа до ресурсу: <https://koloro.ua/blog/issledovaniya/analiz-rynka-molochnoy-produktsii-ukrainyi-2015-2016.html>
- [8] Основні функції мікрофлори кишечника в дітей та особливості використання пробіотиків при її порушенні / [О. В. Тяжка, Т. В. Починок, Л. М. Казакова та ін.]. // Медицина транспорту України. м. Київ: Національний медичний університет імені О.О. Богомольця. – 2011. – С. 91–95.
- [9] Danone: Активія [Электронный ресурс] // Danone.Ua. – 2018. – Режим доступа до ресурсу: <http://danone.ua/milk-product/products/aktivia>

# Створення ферментованих напоїв лікувально-профілактичної дії з додаванням інуліну

Кривутенко І.С., Поліщук Б.В.  
науковий керівник: Косоголова Л.О.  
Кафедра біотехнології,  
Навчально-науковий інститут екологічної безпеки  
Національний авіаційний університет,  
Київ, Україна  
[Polischuk\\_D@ukr.net](mailto:Polischuk_D@ukr.net)

**Анотація** — робота присвячена розгляду проблеми пошуку альтернативних джерел хімічних речовин для створення ферментованих напоїв лікувально-профілактичної дії. В роботі запропоновано додавання інуліну як багатофункціонального полісахариду з пробіотичними властивостями.

**Ключові слова** — кульбаба лікарська, інулін, ферментовані напої.

## I. Вступ

Напої служать джерелом вуглеводів, органічних кислот, мінеральних речовин та інших біологічно активних компонентів. Безалкогольні напої, виготовлені на натуральній основі з фруктів, ягід, овочів — ідеальне джерело необхідних людині вітамінів. Овочі і фрукти, а також виготовлені на їх основі напої і сиропи, служать джерелом вітамінів С, РР, фолієвої кислоти, каротину. Що стосується вітамінів групи В, жиророзчинних вітамінів D і Е, то їх вміст в овочах, фруктах і продуктах на їх основі дуже незначний.

Для підвищення цінності напоїв вносять вітаміни до рівня, який відповідає фізіологічним потребам людини. Безалкогольні напої збагачують аскорбіновою кислотою (150—160 мг/л), тіаміном (1,0—1,2 мг/л), рибофлавіном (0,5—1,0 мг/л), вітаміном В6 (1,5—2,5) мг/л. Споживання цих напоїв у кількості 200 мл на день забезпечить 30-50 % добової потреби людини у вітаміні С і близько 30 % - у вітамінах групи В. Регулярне споживання функціональних напоїв гарантує 30+40 % добової потреби людини в 10 основних вітамінах А, D, Е, В1, В2, В6, В3, С, В12, фолієвій кислоті.

## 1. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

На даний момент споживання напоїв займає провідне місце в раціоні харчування людини. Згідно даних чисельних досліджень стан здоров'я населення залежить від біохімічного та мікробного складу безалкогольних напоїв. З цієї точки зору, найбільш повноцінними можна вважати ферментовані напої, що представляють собою

продукти культивування мікроорганізмів та біологічно активних речовин.

Цінними біологічно активними речовинами кульбаби лікарської є інулін. В корінні цієї рослини міститься до 40% інуліну. виробниками і кількість мікроорганізмів в продукті, не збігаються [2].

Інулін — полісахарид, що є запасним вуглеводом у бульбах і коренях деяких рослин (цикорій, кульбаба, топінамбур, деякі різновиди артишоків). Як і крохмаль, інулін служить запасним вуглеводом, зустрічається в багатьох рослинах. Інулін радикальним чином впливає на обмін речовин, покращує обмін ліпідів — холестерину, тригліцеридів і фосфоліпідів у крові. Знижує ризик виникнення серцево-судинних захворювань, пом'якшує їх наслідки, зміцнює імунну систему організму. Крім того, інулін має імуномодулюючу та гепатопротекторну дію, протидіє виникненню онкологічних захворювань. Прийом препаратів, що містять інулін, дозволяє знизити рівень цукру в діабетиків.

## V.

## ВИСНОВКИ

Отже, додавання інуліну до складу ферментованих напоїв призведе до зміцнення імунної системи, збалансування обміну речовин, зниження захворювань серцево-судинної системи і дозволить нормалізувати склад і функції мікрофлори шлунково-кишкового тракту.

## Список використаних джерел

- [1] Гоцуля Т.С. Дієтичні добавки у фармації / Т.С. Гоцуля, А.В. Самко, В.В. Галиця // Запорізький медичний журнал. — 2011. — Том 13, № 2. — С. 33—37.
- [2] Кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale* Wigg.) [Електронний ресурс]. — Режим доступу: [http://hesychia.in.ua/taraxacum\\_officinale\\_uk.htm](http://hesychia.in.ua/taraxacum_officinale_uk.htm).
- [3] Романова З.М. Особливості технології напоїв з нетрадиційної сировини [Електронний ресурс] / З.М. Романова, Л.О. Косоголова // Проблеми екологічної біотехнології. — 2013. — № 1. — Режим доступу до статті: <http://jml.nau.edu.ua>.



# Застосування хемоорганогетеротрофних мікроорганізмів у космічній галузі

Українська А.О.

науковий керівник: Карпенко В.І.

Кафедра біотехнології,

Навчально-науковий інститут екологічної безпеки

Національний авіаційний університет,

Київ, Україна

ukrainska\_anna@ukr.net

**Анотація** — робота присвячена темі використання хемоорганогетеротрофних мікроорганізмів у космічній галузі. В роботі запропоновано біотехнологічний підхід до синтезу біопалива та виробництва пластику в космічних умовах з використанням хемоорганогетеротрофних організмів.

**Ключові слова** — метан, хемоорганогетеротрофи, біопаливо, пластик, космос, *E.coli*, *Methanosarcina barkeri*.

## 1 ВСТУП

Внаслідок швидкого розвитку космічної галузі, постають проблеми пошуку методів інтенсифікації та здешевлення виробництва палива. З'являється необхідність у наукових розробках щодо забезпечення безпеки та максимальної зручності польотів. Вирішення цих завдань можливо завдяки впровадженню методів біотехнології. Одним із перспективних напрямків у цій сфері є використання хемоорганогетеротрофів.

Хемоорганогетеротрофи - це група мікроорганізмів, джерелом енергії для яких є окисно-відновні реакції, а органічні речовини виступають у якості джерела карбону[1].

У роботі описано застосування двох видів хемоорганогетеротрофних мікроорганізмів: *E. coli* та *Methanosarcina barkeri*.

*E.coli* належить до грамнегативних паличковидних бактерій. Відноситься до мезофільних організмів, має нижню границю росту на межі 10 °С. Оптимальний ріст спостерігається за температури 37°С, однак деякі бактерії не втрачають здатність до поділу навіть при 49°С. Належить до факультативних анаеробів. *E.coli* може симбіотично існувати з метаногенами, які споживають водень продукт метаболізму, який інгібує ріст *E.coli*.

Кишкова паличка належить до хемоорганогетеротрофів, джерелом енергії є окисно-відновні реакції органічні речовини виступають у якості джерела карбону.

Типовим місцем існування *E.coli* є кишечник гомойотермних тварин. Більшість штамів є нешкідливими та становлять частину мікробіоти кишечника. Наявність кишкової палички у ґрунті та воді є індикатором фекального забруднення[2], [3].

*Methanosarcina barkeri* інший хемоорганогетеротроф, що аналізується у цій роботі. Можливість її застосування у космічній галузі обумовлена її належністю до групи метаногенних мікроорганізмів. Ця група характеризується незвичним шляхом отримання енергії та унікальними продуктами метаболізму: вуглекислий газ та метан. Усі метаногени належать до облигатних анаеробів [4]. До цієї групи належать організми з різними типами живлення, але у роботі детально розглянуто хемоорганогетеротрофну бактерію *Methanosarcina barkeri*, яка використовує ацетат у якості джерела енергії та донору електронів, а також як джерело карбону. У якості джерела азоту використовує NH<sub>4</sub> та сульфідні як джерело сірки. Для оптимально росту культури необхідна наявність фосфатів та мікроелементів [5].

## 2. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Головним завданням роботи є аналіз міжнародного досвіду у застосуванні біологічних агентів для підвищення розвитку космонавтики. Особлива увага була приділена хемоорганогетеротрофам, як найбільш поширеній групі серед мікроорганізмів. Мета роботи полягала у дослідженні та аналізі новітніх наукових розробок з використанням *E.coli* та *Methanosarcina barkeri*.

## 3. ОСНОВНА ЧАСТИНА

Командою Лінн Ротшильд було генетично модифіковано штам кишкової палички. Модифікована *E. coli* здатна синтезувати біополімери для пластику, який може самостійно складатися в 3D-фігури при нагріванні. Пластик, продукований *E. coli*, можна складати і надавати йому будь-яку форму. В майбутньому це дозволить астронавтам створювати необхідні інструменти безпосередньо в космосі під час польоту [6]. Крім того бактерії *E. coli* можуть бути використані як біоіндикатори безпеки польотів, адже велика кількість мутантних клітин свідчитиме про наявність небезпечних доз радіації.

Інший вид хемоорганогетеротрофних організмів, що є перспективним для застосування у космічній галузі, включає бактерію *Methanosarcina barkeri*. Бактерія здатна

до продукування метану з використанням у якості субстрату ацетату. Компанія SpaceX заявила про намір створення двигуна, який буде працювати на метані, що значно здешевить вартість ракетного палива. Крім відносної дешевизни та можливості отримання шляхом метаболізму метаногенних бактерій метан ще є кріогенним. Кріогенність метану дозволить двигуну легше очищатися від залишків продуктів, що є необхідним для розробки економічних двигунів багаторазового користування [7], [8]. Тож використання *Methanosarcina barkeri* дозволить здешевити та зробити екологічно чистою технологію синтезу метану як компоненту ракетного біопалива «нового покоління».

## VI. ВИСНОВКИ

У роботі проведено аналіз наукових робіт та міжнародного досвіду щодо можливості використання хемоорганогетеротрофів у космічній галузі. Запропоновано впроваджувати новітні біотехнологічні

наукові дослідження для розвитку космічної галузі. Надано загальний огляд хемоорганогетеротрофних мікроорганізмів *E. coli* та *Methanosarcina barkeri* та розглянуті перспективи їх застосування для виробництва біопалива та пластику.

## Список використаних джерел

- [1] Азам Белясова Н.А. Микробиология.-М:»Высшая школа» Минск 2012.-200-203с.
- [2] [http://medwiki.com/Кишечная\\_палочка](http://medwiki.com/Кишечная_палочка).
- [3] <http://biologylib.ru/books/item/f00/s00/z0000015/st023.shtml>
- [4] <https://probakterii.ru/prokaryotes/vital-functions/metanoobrazujushhie-bakterii.html>.
- [5] [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Methanosarcina\\_barkeri](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Methanosarcina_barkeri)
- [6] <http://2015.igem.org/Team:Stanford-Brown/Plastic>
- [7] <https://elonmusk.su/metan-kak-perspektivnoe-raketnoe-goryuchee/>
- [8] <http://ukrgaz.biz/spacex-zamenit-raketnoe-toplivo-metanom>