

Ферментативная активность *Acinetobacter radioresistens* при культивировании на вторичном растительном сырье

Всероссийский
научно-исследовательский институт
пищевых добавок – филиал
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Федеральный научный центр
пищевых систем им. В.М. Горбатова»
РАН, Санкт-Петербург, Российская
Федерация

Д. Д. Белова, А. А. Принцева, А. П. Непомнящий,
П. Н. Сорокоумов, Н. Ю. Шарова

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Белова Дарья Дмитриевна,
191014, Литейный проспект д. 55,
г. Санкт-Петербург, Россия
E-mail: info@vniipd.ru

ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования
доступны по запросу
у корреспондирующего автора.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Белова, Д. Д., Принцева, А. А., Непомнящий, А. П., Сорокоумов, П. Н., & Шарова, Н. Ю. (2024). Ферментативная активность *Acinetobacter Radioresistens* при культивировании на вторичном растительном сырье. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 32(1), 17-30. <https://doi.org/10.36107/spfr.2024.1.551>

ПОСТУПИЛА: 13.12.2023

ПРИНЯТА: 15.06.2024

ОПУБЛИКОВАНА: 30.06.2024

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

автор сообщает об отсутствии
конфликта интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ:

Исследования проведены по теме
FGUS-2022-0003 в рамках
государственного задания
№ 075-01190-22-00 ВНИИ
пищевых добавок – филиал ФГБНУ
«ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова» РАН.

АННОТАЦИЯ

Введение: В последние годы особое внимание уделяется снижению объема и переработке пищевых отходов. Богатый химический состав и доступность делают рапсовый жмых и соевый шрот перспективными источниками питательных веществ. Данное вторичное сырье может быть использовано для культивирования микроорганизмов с целью получения ценных биологически активных соединений и продуктов с высокой добавленной стоимостью.

Цель: Исследовать ферментативную активность бактериального изолята *Acinetobacter radioresistens* при культивировании на вторичном растительном сырье, а также проанализировать содержание сахаров и жирно-кислотный состав в процессе культивирования.

Материалы и методы: Объектами исследования являлись рапсовый жмых, соевый шрот и бактериальный изолят *Acinetobacter radioresistens*, выделенный из пшеничных отрубей. Культивирование *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье проводили глубинным способом при гидромодуле 1:9, температуре (28 ± 1) °C и частотой вращения платформы шейкера 180 об/мин в течение 6 суток. Отбор проб проводили на 1, 2, 3 и 6 сут культивирования. В образцах растительно-микробной биомассы, состоящих из ферментированных образцов рапсового жмыха или соевого шрота и клеток *A. radioresistens*, определяли pH (потенциометрическим методом) и профиль жирных кислот (методом газовой хроматографии). Для определения концентрации белка (методом Лоури), протеолитической и фитазной активностей (фотоколориметрическим методом), содержания сахаров и глюкозамина (методом высокоэффективной жидкостной хроматографии) использовали супернатант, полученный после центрифугирования растительно-микробной биомассы при скорости вращения ротора 8000 об/мин в течение 20 мин.

Результаты: При культивировании *A. radioresistens* на рапсовом жмыхе в большей степени проявлялась активность щелочных протеаз. Максимальная протеолитическая активность составила ($133,71 \pm 6,69$) ед/см³ на 1 сут культивирования. При культивировании *A. radioresistens* на соевом шроте преобладала активность нейтральных протеаз. Максимальная протеолитическая активность составила ($121,00 \pm 6,05$) ед/см³ на 3 сут культивирования. Помимо протеолитической активности бактериальный изолят *A. radioresistens* на соевом шроте проявлял фитазную активность. В отобранных образцах культуральной жидкости содержание глюкозамина и других сахаров было выше при использовании соевого шрота в качестве субстрата. В результате анализа жирно-кислотного состава выявлены жирные кислоты с длиной алкильной цепи от C₈ до C₂₄ атомов углерода.

Выводы: Экспериментальные данные, полученные в результате культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье, могут быть использованы для получения биологически активных соединений и кормовых продуктов для сельскохозяйственных животных, а также представляют интерес для перерабатывающей промышленности при разработке способов высокоэффективной переработки растительных отходов с помощью биотехнологических процессов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

вторичное растительное сырье, соевый шрот, рапсовый жмых, *Acinetobacter radioresistens*, ферменты, протеолитическая активность, фитазная активность



Enzymative activity of *Acinetobacter radioresistens* during cultivation on secondary plant raw materials

VNIIPK – Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Russian Federation

Daria D. Belova, Anastasia A. Printseva, Anatoly P. Nepomnyashiy, Pavel N. Sorokoumov, Natalya Yu. Sharova

CORRESPONDENCE:

Daria Dmitrievna Belova

E-mail: info@vniipd.ru

DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

FOR CITATIONS:

Belova, D., Printseva, A., Nepomnyashiy, A., Sorokoumov, P., Sharova, N. (2024). Enzymative activity of acinetobacter radioresistens during cultivation on secondary plant raw materials. *Storage and Processing of Farm Products*, 32(1), 17-30. <https://doi.org/10.36107/spfp.2024.1.551>

RECEIVED: 13.12.2023

ACCEPTED: 15.03.2024

PUBLISHED: 30.03.2024

DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.

FUNDING

The research was conducted on the topic FGUS-2022-0003 within the framework of the state task No. 075-01190-22-00 of the VNIIP additives – a branch of the FGBNU «V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems» of the Russian Academy of Sciences.



ABSTRACT

Introduction: In recent years, there has been a strong focus on reducing and recycling food waste. The rich chemical composition and availability make rapeseed cake and soybean meal promising sources of nutrients. These secondary raw materials can be used for cultivating microorganisms to obtain valuable biologically active compounds and products with high added value.

Purpose: To study the enzymatic activity of the bacterial isolate *Acinetobacter radioresistens* when cultivated on secondary plant materials, and also to analyze the sugar content and fatty acid composition during the cultivation process.

Materials and Methods: The objects of the study were rapeseed cake, soybean meal and a bacterial isolate of *Acinetobacter radioresistens* isolated from wheat bran. Cultivation of *A. radioresistens* on secondary plant materials was carried out by deep method at a hydromodulus of 1:9, temperature (28 ± 1) °C and a shaker platform rotation speed of 180 rpm for 6 days. Sampling was carried out on days 1, 2, 3 and 6 of cultivation. In samples of plant-microbial biomass, consisting of fermented samples of rapeseed cake or soybean meal and *A. radioresistens* cells, the pH (potentiometric method) and fatty acid profile (gas chromatography method) were determined. To determine protein concentration (by the Lowry method), proteolytic and phytase activities (photocolorimetric method), sugar and glucosamine content (by high-performance liquid chromatography), we used the supernatant obtained after centrifugation of plant-microbial biomass at a rotor speed of 8000 rpm for 20 min.

Results: When *A. radioresistens* was cultivated on rapeseed cake, the activity of alkaline proteases was more pronounced. The maximum proteolytic activity was (133.71 ± 6.69) units/cm³ on day 1 of cultivation. When *A. radioresistens* was cultivated on soybean meal, the activity of neutral proteases predominated. The maximum proteolytic activity was (121.00 ± 6.05) units/cm³ on the 3rd day of cultivation. In addition to proteolytic activity, the bacterial isolate of *A. radioresistens* on soybean meal exhibited phytase activity. In the selected culture fluid samples, the content of glucosamine and other sugars was higher when soybean meal was used as a substrate. As a result of the analysis of fatty acid composition, fatty acids with an alkyl chain length from C₈ to C₂₄ carbon atoms were identified.

Conclusion: Experimental data obtained from the cultivation of *A. radioresistens* on secondary plant materials can be used to obtain biologically active compounds and feed products for farm animals, and are also of interest to the processing industry in developing methods for highly efficient processing of plant waste using biotechnological processes.

KEYWORDS

secondary plant raw materials; soybean meal; rapeseed cake; *Acinetobacter radioresistens*; enzymes; proteolytic activity; phytase activity

ВВЕДЕНИЕ

Рапсовый жмых и соевый шрот являются основными побочными продуктами маслопроизводства ежегодно образующиеся в больших количествах. Двумя традиционными методами извлечения масла из семян масличных культур являются использование шнекового пресса или растворителей. Термин «жмых» относится к побочному продукту, поступающему непосредственно из шнекового пресса, тогда как термин «шрот» используется, когда применяется дополнительный процесс обезжиривания, обычно на основе органических растворителей (Arrutia et al., 2020).

Рапсовый жмых и соевый шрот характеризуются высоким содержанием белка, клетчатки и являются природными источниками минералов, витаминов и фенольных соединений с высоким биологическим потенциалом. Помимо основного применения в качестве кормов для животных, удобрений и компоста, они представляют высокий потенциал для использования в биотехнологических процессах (Sousa et al., 2023; Soghandi et al., 2023; Sousa et al., 2023). Биотехнологическая переработка вторичного растительного сырья является одним из наиболее экономически эффективных способов переработки побочных продуктов для получения и восстановления ценных биологически активных соединений (белков, пептидов, ферментов, пигментов, фенольных соединений), представляющих экономический и промышленный интерес при одновременном получении продуктов с улучшенной питательной ценностью (Wongsirichot et al., 2022; Sath et al., 2018; Sousa et al., 2023).

Ферменты, также известные как биокатализаторы, представляют собой биологические макромолекулы, играющие решающую роль в ускорении скорости и специфичности различных химических реакций и метаболических процессов. Промышленные ферменты имеют животное (химозин, пепсин, трипсин и панкреатин), растительное (фицин, папаин и бромелайн) и микробное происхождение (протеазы, липазы, пектиназы, амилазы, глюкоамилазы и др.). Микробные ферменты активно используются при производстве фармацевтических, косметических, моющих средств, кожи, текстиля, бумаги, биотоплива, продуктов питания, напитков и других потребительских товаров. Они обладают более высокой стабильностью и активностью

по сравнению с растительными и животными ферментами. Кроме того, микробные ферменты можно производить в большем количестве посредством процессов ферментации, они более стабильны в экстремальных условиях, экономически эффективны, легко масштабируются и оптимизируются (Thapa et al., 2019; Tatta et al., 2022). Данные свойства сделали применение микробных ферментов незаменимым биологическим инструментом в различных отраслях промышленности, а поиск новых штаммов-производителей ферментов актуальным направлением исследований.

Acinetobacter обширный род бактерий, состоящий из множества видов с различными характеристиками. Несмотря на то, что некоторые виды данного рода, вызывают внутрибольничные и внебольничные инфекции, особенно у людей с ослабленным иммунитетом, представители рода *Acinetobacter* обладают высоким биотехнологическим потенциалом. Он содержит множество экологически важных видов, которые обладают широким спектром метаболических возможностей, например, способны расщеплять загрязняющие вещества (углеводороды, производные аминокислот и нефть), используя их в качестве основного источника питания. Liu et al. (2020) идентифицировали и использовали для биоремедиации почв штамм *Acinetobacter radioresistens* APH1, обладающий высокой активностью к разложению фенола. Представители рода способны к разложению фармацевтических отходов из окружающей среды (Wang et al., 2018). Применение видов *Acinetobacter* не ограничивается биodeградацией и биоремедиацией, они используются в качестве люминесцентных биорепортеров, производителей липазы, биосурфактантов, биополимеров, биодизельного топлива, участвуют при производстве лекарств, косметики и находят другое практическое применение (Dahal et al., 2023).

Переработка вторичного растительного сырья с помощью микроорганизмов является актуальным направлением исследования. Микроорганизмы оказывают влияние на углеводный и жирно-кислотный состав сырья, делая его более доступным в качестве кормового сырья, а также способствуют образованию ценных биологически активных соединений. Выделенный из пшеничных отрубей бактериальный изолят *A. radioresistens* представляет интерес как производитель различных групп ферментов (Свердлова и соавт., 2022), не только липаз. Учи-

тывая разнообразие компонентного состава рапсового жмыха и соевого шрота, можно предположить, что они содержат, также как и пшеничные отруби, доступные для *A. radioresistens* субстраты-индукторы биосинтеза широко спектра гидролаз.

Целью данной статьи — исследование протеолитической и фитазной активности бактериального изолята *Acinetobacter radioresistens*, а также анализ содержания сахаров, в том числе аминокислотных, и жирно-кислотного состава вторичного растительного сырья в результате ферментации для установления закономерностей изменения содержания антипитательных веществ и выявления полезных соединений — потенциальных микроингредиентов пищевого и кормового назначения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Объектами исследования в ходе выполнения работы являлись рапсовый жмых (производитель «Рецепты Дедушки Никиты», г. Екатеринбург), соевый шрот (производитель ООО «Золотая Нива», г. Санкт-Петербург) и бактериальный изолят *Acinetobacter radioresistens*, выделенный сотрудниками ВНИИПД из пшеничных отрубей (Свердлова и соавт., 2022).

Оборудование

pH-метр pH-410 базовый (Аквилон НПК, Россия), спектрофотометр Shimadzu UF-1800 (Shimadzu, Япония), термостат Memmert IN75plus (Mettler, Германия), высокоэффективный жидкостной хроматограф Agilent 1260 Infinity II (Agilent, США), рефрактометрический детектор Agilent 1260 Infinity II (Agilent, США), термостат твердотельный с таймером ТТ-2 «Термит» (ДНК Технология, Россия), газовый хроматограф Varian 450-GC (Varian, США), масс-спектрометрический детектор Varian 240-MS (Varian, США), автосэмплер Varian PAL (Varian, США), лабораторная центрифуга MPW-351 R (MPW Med. Instruments, Польша), ламинарный бокс II класса биологической безопасности ESCO Streamline®

SC2-6A1 (ESCO Streamline®, Сингапур), шейкер-инкубатор Multitron standard (INFORS HT, Швейцария), вакуумный концентратор Concentrator plus (Eppendorf, Германия).

Методы

Измерение pH

pH полученных в результате культивирования проб определяли с помощью pH-метра pH-410 базовый (Аквилон НПК, Россия) в комплекте с лабораторным стеклянным комбинированным электродом.

Определение концентрации белка

Для определения динамики изменения концентрации белка в процессе культивирования бактериального изолята *A. radioresistens* на рапсовом жмыхе и соевом шроте использовали метод Лоури. В основе данного метода лежит биуретовая реакция, которая позволяет выявить пептидную связь и реакция Фолина на ароматические аминокислоты. К 2 см³ полученных в результате культивирования проб на 1, 2, 3 и 6 сут добавляли 10 см³ свежеприготовленного реактива С. Полученную смесь энергично перемешивали и выдерживали 10 мин при комнатной температуре. После чего приливали 1 см³ реактива Фолина, предварительно разбавленного в два раза дистиллированной водой, тщательно перемешивали и выдерживали в темном месте в течение 30 мин для развития окраски. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Shimadzu UF-1800 (Shimadzu, Япония) при длине волны 750 нм в кювете с толщиной проходящего слоя 10 мм. Концентрацию белка в исследуемых растворах определяли по калибровочному графику.

Определения протеолитической активности

Для определения протеолитической активности использовали модифицированный метод Ансона с применением казеината натрия по ГОСТ 20264.2-88¹. Метод основан на свойстве протеаз гидролизовать казеинат натрия до пептидов и аминокислот с последующим их определением. Казеинат натрия используется в качестве субстрата для

¹ ГОСТ 20264.2-88. (1988). *Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности*. М.: Государственный комитет СССР по стандартам.

протеаз и растворяется в универсальном буферном растворе с доведением рН до 5,5; 7,2 и 9,5.

Определение фитазной активности

Фитазную активность определяли фотоколориметрическим методом по ГОСТ 31487–2012². Метод основан на определении содержания неорганических фосфатов (PO_4), образующихся в результате действия фермента фитазы на субстрат — фитат натрия (натриевую соль фитиновой кислоты) — при определенных стандартных условиях, путем их связывания ванадиево-молибденовым реактивом с образованием фосфорнованадиево-молибденового комплекса желтого цвета.

Исследование на содержание сахаров и глюкозамина

Исследование на содержание сахаров и глюкозамина проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity II (Agilent, США) с рефрактометрическим детектором Agilent 1260 Infinity II (Agilent, США) и хроматографической колонкой Agilent Hi-Plex Ca 300×7.7 мм, размер частиц 8 мкм (Agilent, США). В качестве элюента использовалась деионизованная вода, скорость потока элюента 0,6 см³/мин, температура термостата колонки (80 ± 1) °С. Для построения градуировочной характеристики использовали стандарты сахаров и стандарт глюкозамина Sigma-Aldrich PHR1199–500MG (Sigma-Aldrich, США). Были приготовлены стандартные растворы с концентрацией сахаров и глюкозамина 10, 50, 100 и 500 мкг/см³. Для определения сахаров опытные образцы в количестве 0,500 г разбавляли в 100 раз деионизованной водой и в количестве 20 мкл вводили в хроматограф. Для определения глюкозамина опытные образцы в количестве 0,500 г упаривали досуха на вакуумном концентраторе Concentrator plus (Eppendorf, Германия). К высушенным образцам добавляли по 1 см³ 0,1 М серной кислоты. Полученную смесь нагревали в термостате ТТ-2 «Термит» (ДНК Технология, Россия) до температуры (60 ± 1) °С в течение 1,5 ч и оставляли при комнатной температуре (23 ± 2) °С на 15 часов. Полученные растворы разбавляли в 100 раз деионизованной водой и в количестве 20 мкл вводили в хроматограф.

Определение профиля жирных кислот

Определение профиля жирных кислот в образцах проводили на газовом хроматографе Varian 450-GC (Varian, США) с масс-спектрометрическим детектором Varian 240-MS (Varian, США) и капиллярной колонкой Varian WCOT fused silica 50M X 0.25MM ID Coating CP-WAX 58 (FFAP)-CB DF=0.2 (Varian, США). В качестве газа-носителя использовался гелий марки 6.0. Скорость потока газа-носителя 1 см³/мин, температура инжектора 250 °С, сплит 1:15, начало регистрации хроматограммы с 9 минуты. Температурная программа представлена в Таблице 1.

Таблица 1

Температурная программа анализа

Температура, °С	Скорость нагрева, °С/мин	Время при заданной температуре, мин	Общее время, мин
50	—	4	4
190	6	15	42,33
250	4	10	67,33

Полученные образцы в количестве 0,500 г упаривали досуха на вакуумном концентраторе Concentrator plus (Eppendorf, Германия). К упаренным образцам добавили 600 мкл 15 % раствора серной кислоты в метаноле и 600 мкл хлороформа. Эппендорф тщательно герметизировали парафильмом и помещали в термостат ТТ-2 «Термит» (ДНК Технология, Россия) на 1 час при температуре (65 ± 1) °С. Далее пробу остужали до температуры (23 ± 2) °С, добавляли 200 мкл деионизованной воды и тщательно перемешивали. Органический слой отбирали для анализа и непосредственно вводили в хроматограф 1 мкл с помощью автосэмплера Varian PAL (Varian, США) и хроматографического шприца на 10 мкл (Hamilton, США).

Процедура исследования

Вторичное растительное сырье (рапсовый жмых или соевый шрот) смешивали с водой в соотношении 1:9 ((30 ± 1) г сырья и 270 см³ питьевой воды) в качалочных колбах Эрленмейера. Полученные растительные субстанции автоклавировали при (121 ± 1) °С в течение 30 мин для инактив-

² ГОСТ 31487–2012. (2012). *Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности фитазы*. М.: Стандартинформ.

вазии исходной микрофлоры сырья и охлаждали до (28 ± 1) °С.

Бактериальный изолят *A. radioresistens* предварительно выращивали в микробиологических пробирках на скошенной плотной агаризованной среде ГМФ-агар (ООО НИЦФ, Санкт-Петербург) в термостате Memmert IN75plus (Mempert, Германия) при температуре (28 ± 1) °С в течение 3 суток. Титр исходного инокулята составил $2,1 \times 10^7$ КОЕ/см³. Все манипуляции с бактериальным изолятом проводили в ламинарном боксе II класса биологической безопасности ESCO Streamline® SC2–6A1 (ESCO Streamline®, Сингапур).

Культивирование бактериального изолята *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье проводили глубинным способом в шейкере-инкубаторе Multitron standard (INFORS HT, Швейцария) при температуре (28 ± 1) °С и частотой вращения платформы 180 об/мин в течение 6 суток. Отбор проб проводили на 1, 2, 3 и 6 сут культивирования.

В качестве контрольных образцов использовали автоклавированное вторичное растительное сырье (рапсовый жмых или соевый шрот) с водой без внесения бактериального изолята.

В образцах растительно-микробной биомассы, состоящих из ферментированных образцов рапсового жмыха или соевого шрота и клеток *A. radioresistens* определяли pH и профиль жирных кислот методом газовой хроматографии.

Для определения концентрации белка, протеолитической, фитазной активностей, содержания сахаров и глюкозамина использовали супернатант, полученный после центрифугирования растительно-микробной биомассы на лабораторной центрифуге MPW-351 R (MPW Med. Instruments, Польша) при скорости вращения ротора 8000 об/мин в течение 20 мин.

Анализ данных

Все измерения выполнены в трехкратной повторности. Математическую обработку экспериментальных данных проводили в программе Microsoft Excel 2013 и выражали в виде среднеарифметических значений \pm абсолютная погрешность изме-

рения, указанная в методиках, при доверительной вероятности $P = 0,95$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

pH и концентрация белка

Богатый химический состав и доступность делают рапсовый жмых и соевый шрот перспективными источниками питательных веществ, которые могут быть использованы в качестве субстратов для культивирования микроорганизмов. Предварительная обработка растительного сырья с помощью автоклавирования, предотвращает культивирование нативной микрофлоры сырья и делает его более доступным субстратом для культивирования *A. radioresistens*. В Таблице 2 представлена динамика изменения значений pH в образцах растительно-микробной биомассы в процессе культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье.

Таблица 2

Значения pH в образцах растительно-микробной биомассы в процессе культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье

Продолжительность культивирования	pH, ед. pH
<i>Рапсовый жмых</i>	
Контроль	5,99 \pm 0,10
1 сут	6,14 \pm 0,10
2 сут	5,98 \pm 0,10
3 сут	5,79 \pm 0,10
6 сут	5,68 \pm 0,10
<i>Соевый шрот</i>	
Контроль	6,60 \pm 0,10
1 сут	6,88 \pm 0,10
2 сут	6,81 \pm 0,10
3 сут	6,77 \pm 0,10
6 сут	6,78 \pm 0,10

Значения кислотности растительно-микробной биомассы в процессе культивирования изменялись незначительно и характеризовались нейтральной или слабокислой средой. Максимальные значения pH зафиксированы на 1 сут культивирования и составили $(6,14 \pm 0,10)$ ед. pH для рапсового жмыха и $(6,88 \pm 0,10)$ ед. pH для соевого шрота.

Динамика изменения количества белка в культуральной жидкости в процессе культивирования бактериального изолята *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье представлена в Таблице 3.

Таблица 3

Концентрации белка в культуральной жидкости в процессе культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье

Продолжительность культивирования	Содержание белка, мг/см ³
<i>Рапсовый жмых</i>	
Контроль	7,08 ± 0,35
1 сут	7,62 ± 0,38
2 сут	8,78 ± 0,44
3 сут	8,93 ± 0,45
6 сут	9,46 ± 0,47
<i>Соевый шрот</i>	
Контроль	19,11 ± 0,96
1 сут	21,42 ± 1,07
2 сут	21,39 ± 1,07
3 сут	22,96 ± 1,15
6 сут	21,12 ± 1,06

В процессе культивирования *A. radioresistens* на рапсовом жмыхе концентрация белка в культуральной жидкости возрастала. При использовании в качестве субстрата соевого шрота концентрация белка возрастала до 3 сут культивирования, однако на 6 сут наблюдалось её снижение. На рапсовом жмыхе максимальная концентрация белка (9,46 ± 0,47) мг/см³ зафиксирована на 6 сут культивирования, на соевом шроте на 3 сут — (22,96 ± 1,15) мг/см³.

Для преобразования трудногидролизуемых биополимеров в доступные формы в процессе культивирования *A. radioresistens* на растительном сырье синтезируются различные виды гидролитических ферментов.

Протеолитическая и фитазная активность

Протеазы (КФ 3.4.21) представляют собой класс гидролаз, расщепляющих пептидные связи, соединяющие соседние аминокислотные остатки в молекуле белка, с образованием более коротких пептидов и аминокислот. Эти ферменты широко распростра-

нены в природе и могут быть растительного, животного и микробного происхождения. Микробные протеазы отличаются широким разнообразием и включают кислые, нейтральные и щелочные протеазы. Протеазы играют важную роль в физиологии и метаболизме всех живых организмов. Помимо очевидной роли в переваривании белков и пептидов, эти ферменты участвуют в регуляции широкого спектра физиологических процессов (Bond 2019, р. 1643–1651). Протеазы также активно используются в различных отраслях промышленности (пищевой, фармацевтической, кожевенной, биотехнологической, химической) (Song et al., 2023, 1236368; Solanki et al., 2021, 428). Более активный синтез протеолитических ферментов *A. radioresistens* зафиксирован при использовании рапсового жмыха в качестве субстрата (Таблица 4).

Таблица 4

Протеолитическая активность *A. radioresistens* в процессе культивирования на вторичном растительном сырье

Продолжительность культивирования	Протеолитическая активность, ед/см ³		
	Кислая среда, pH = 5,5	Нейтральная среда, pH = 7,2	Щелочная среда, pH = 9,5
<i>Рапсовый жмых</i>			
Контроль	17,71 ± 0,89	0	32,57 ± 1,63
1 сут	7,14 ± 0,36	4,05 ± 0,20	133,71 ± 6,69
2 сут	27,43 ± 1,37	28,62 ± 1,43	85,71 ± 4,29
3 сут	9,25 ± 0,46	120,08 ± 6,00	119,87 ± 5,99
6 сут	10,29 ± 0,51	27,43 ± 1,37	75,43 ± 3,77
<i>Соевый шрот</i>			
Контроль	0	0	18,57 ± 0,93
1 сут	3,43 ± 0,17	2,29 ± 0,11	10,29 ± 0,51
2 сут	10,29 ± 0,51	17,15 ± 0,86	5,71 ± 0,29
3 сут	17,18 ± 0,86	121,00 ± 6,05	4,27 ± 0,21
6 сут	9,26 ± 0,46	85,71 ± 4,29	20,57 ± 1,03

Максимальная протеолитическая активность (133,71 ± 6,69) ед/см³ определена на 1 сут культивирования на рапсовом жмыхе в щелочной среде, (120,08 ± 6,00) ед/см³ на 3 сут в нейтральной среде и (27,43 ± 1,37) ед/см³ на 2 сут в кислой среде. В большей степени проявлялась активность щелочных протеаз в процессе эксперимента.

При культивировании *A. radioresistens* на соевом шроте преобладала активность нейтральных протеаз. Максимальная протеолитическая активность

составила $(121,00 \pm 6,05)$ ед/см³ на 3 сут культивирования в нейтральной среде.

Полученные данные протеолитической активности находятся на уровне сопоставимом со значениями коммерческого микробного препарата «Протосубтилин» Г3х — 70 ед/г (I группа), 120 ед/г (II группа), используемого в качестве кормовой добавки, а также превышают активность молочно-кислых кормовых добавок МКД-L (*Lactobacillus acidophilus*) — 1,0 ед/см³, МКД-S (*Streptococcus thermophilus*) — 2,5 ед/см³, МКД-B (*Bifidobacter bifidum longum*) — 2,0 ед/см³, МКД-P (*Propionobacterium acidi-propionicum*) — 7,5 ед/см³ (Ланцева и соавт., 2016) и микробного протеолитического препарата (*Bacillus subtilis*) — 26,1 ед/см³ (Анашкина и соавт., 2023).

Помимо протеолитической активности при культивировании на соевом шроте бактериальный изолят *A. radioresistens* проявлял фитазную активность (Рисунок 1).

de Oliveira Costa et al. (2018) указывают, что активность фитазы была обнаружена у эндофитных бактерий родов *Bacillus*, *Streptomyces*, *Acinetobacter* и *Rhizobium*, выделенных из семян и корней *Phaseolus vulgaris* (фасоль обыкновенная). Фитазы или мио-инозитол-гексакисфосфат-фосфогидролазы (КФ 3.1.3.8; 3.1.3.26; 3.1.3.72) могут быть животного, растительного и микробного происхождения. Особенностью данных ферментов является их способность гидролизовать фитиновую кислоту

(мио-инозитолгексакисфосфат) и фитаты (соли фитиновой кислоты), переводить в доступную форму неорганический фосфор и фосфорилированные мио-инозитолы (Gocheva et al., 2023). В связи с тем, что животные с однокамерным желудком, такие как свиньи и домашняя птица, не способны расщеплять фитиновую кислоту, содержащуюся в растительном сырье им необходимо вводить фитазу в качестве кормовых ферментов. Кроме того, фитиновая кислота действует как антипитательный фактор, хелатируя двухвалентные катионы (такие как Zn²⁺, Fe^{2+/3+}, Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺ и Cu²⁺), белки, крахмал и липиды, тем самым предотвращая их всасывание в желудочно-кишечном тракте (Joudaki et al., 2023).

На 1 сут культивирования фитазная активность составила $(3,27 \pm 0,16)$ ед/см³, при дальнейшем культивировании данный показатель снижался до $(0,75 \pm 0,04)$ ед/см³ на 3 сут, однако, максимальная фитазная активность $(3,54 \pm 0,18)$ ед/см³ зафиксирована на 6 сут культивирования. В контрольном образце фитазная активность не наблюдалась.

Содержание сахаров и глюкозамина

В процессе культивирования бактериальной культуры происходят различные биохимические реакции для перевода высокомолекулярных соединений субстрата в более простую и доступную форму, чтобы они могли поступать в клетки для обеспечения их жизнедеятельности, роста биомассы и синтеза биологически активных соединений.

Многие виды *Acinetobacter*, в том числе *A. venetianus* RAG-1, *A. calcoaceticus* RAG-1, *A. calcoaceticus* BD4 RAG1, *A. radioresistens* KA53, *A. calcoaceticus* A2, способны продуцировать полимерные биоэмульгаторы (эмульсин, биодисперсан и аласан) моносахаридный состав углеводной части которых включает глюкозамин (Dahal et al., 2023; Pirog et al., 2021). Глюкозамин представляет собой природный аминоксахарид, в котором гидроксильная группа глюкозы заменена аминогруппой. Он относится к функциональным аминоксахарам и является важным компонентом гликопротеинов и протеогликанов. Глюкозамин широко используется в производстве пищевых добавок и продуктов здорового питания благодаря своим физиологическим свойствам. Он способствует снижению веса, участвует в регулиро-

Рисунок 1

Фитазная активность *A. radioresistens* в процессе культивирования на соевом шроте

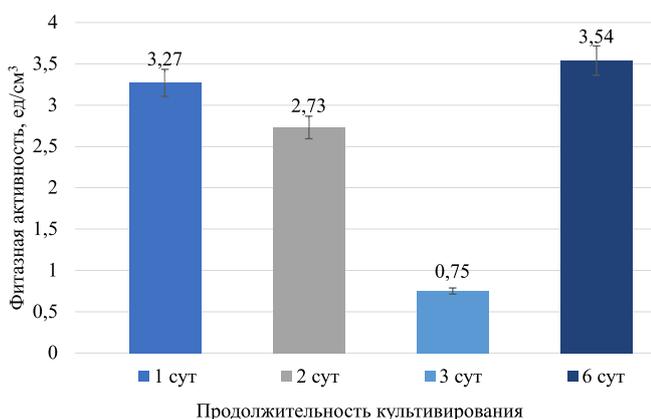


Таблица 5

Содержание сахаров и глюкозамина в культуральной жидкости в процессе культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье

Продолжительность культивирования	Содержание, г/дм ³				
	Сахароза	Мальтоза	Глюкоза	Фруктоза	Глюкозамин
<i>Рапсовый жмых</i>					
Контроль	1,51 ± 0,08	0	2,79 ± 0,14	2,21 ± 0,11	3,30 ± 0,17
1 сут	1,77 ± 0,09	0	2,69 ± 0,13	2,77 ± 0,14	3,59 ± 0,18
2 сут	1,64 ± 0,08	0,20 ± 0,01	2,29 ± 0,11	2,52 ± 0,13	3,81 ± 0,19
3 сут	1,91 ± 0,10	0,48 ± 0,02	2,66 ± 0,13	2,79 ± 0,14	3,73 ± 0,19
6 сут	1,81 ± 0,09	0,48 ± 0,02	2,52 ± 0,13	2,66 ± 0,13	4,25 ± 0,21
<i>Соевый шрот</i>					
Контроль	2,96 ± 0,15	0,42 ± 0,02	4,13 ± 0,21	4,56 ± 0,23	10,53 ± 0,53
1 сут	2,89 ± 0,14	0,56 ± 0,03	4,02 ± 0,20	4,52 ± 0,23	11,62 ± 0,58
2 сут	2,72 ± 0,14	0,50 ± 0,03	3,79 ± 0,19	4,18 ± 0,21	10,66 ± 0,53
3 сут	2,77 ± 0,14	0,59 ± 0,03	3,86 ± 0,19	4,34 ± 0,22	11,27 ± 0,56
6 сут	2,63 ± 0,13	0,60 ± 0,03	3,66 ± 0,18	4,17 ± 0,21	10,56 ± 0,53

вание эндокринной системы человека и проявляет антиоксидантную, геропротекторную, антимикробную активности. Глюкозамин и его ацетилированное производное N-ацетилглюкозамин синтезируются во всех организмах, включая бактерии, дрожжи, нитчатые грибы, растения и животные, и активно используются в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. В медицине они применяются для детоксикации печени и почек, лечения остеоартрита, восстановления и поддержания хряща, уменьшения воспаления и защиты печени (Yang et al., 2023; Liu et al., 2013).

Изменение содержания сахаров и глюкозамина в культуральной жидкости в процессе культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье представлено в Таблице 5.

Согласно полученным результатам, содержание глюкозамина и других сахаров выше при использовании соевого шрота в качестве субстрата. Максимальная концентрация глюкозамина составила (11,62 ± 0,58) г/дм³ на 1 сут культивирования, что на 10,35% выше по сравнению с контрольным образцом. При использовании рапсового жмыха максимальная концентрация глюкозамина (4,25 ± 0,21) г/дм³ зафиксирована на 6 сут культивирования, что на 28,73% выше по сравнению с контрольным образцом.

В процессе культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье происходило накопление мальтозы. При использовании рапсового жмыха в качестве субстрата мальтоза определялась со 2 сут культивирования, на соевом шроте концентрация мальтозы увеличивалась на всех этапах культивирования по сравнению с контрольным образцом. Содержание глюкозы постепенно снижалось на обоих субстратах, с незначительным скачком на 3 сут культивирования. Содержание сахарозы и фруктозы снижалось в процессе культивирования на соевом шроте по сравнению с контрольным образцом. Обратная зависимость наблюдалась при использовании рапсового жмыха, концентрация данных сахаров возрастала по сравнению с контрольным образцом.

Профиль высших жирных кислот

В процессе работы оценивали влияние обработки бактериальным изолятом *A. radioresistens* на жирно-кислотный профиль вторичного растительного сырья. Были определены жирные кислоты с длиной алкильной цепи от C₈ до C₂₄ атомов углерода, также в процессе анализа выявлены две двухосновные предельные карбоновые кислоты — малоновая и янтарная (Таблица 6).

Таблица 6

Профиль высших жирных кислот в образцах растительно-микробной биомассы, в процессе культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье

Наименование кислоты	Содержание жирной кислоты, %									
	Рапсовый жмых					Соевый шрот				
	контроль	1 сут	2 сут	3 сут	6 сут	контроль	1 сут	2 сут	3 сут	6 сут
Малоновая (двухосновная)	–	0,4	–	–	–	2,1	0,6	0,7	0,3	0,2
Янтарная (двухосновная)	–	1,1	–	–	–	3,5	–	1,3	0,4	0,1
<i>Насыщенные</i>										
Лауриновая (C12:0)	–	1,9	–	–	–	0,1	3,9	0,1	0,2	0,2
Миристиновая (C14:0)	0,1	–	0,4	0,5	0,5	0,6	1,7	0,7	0,8	0,7
Пентадекановая (C15:0)	–	0,3	–	–	–	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2
Пальмитиновая (C16:0)	4,3	3,9	5,6	5,7	5,3	7,9	5,1	10,7	9,2	10,8
Маргариновая (C17:0)	0,2	1,3	0,2	0,1	0,1	0,2	1,7	0,2	0,2	0,2
Стеариновая (C18:0)	3,5	12,2	2,6	2,5	2,6	8,6	14,5	9,7	10,0	13,0
Арахидоновая (C20:0)	0,4	3,4	0,8	0,7	0,7	0,5	1,2	0,5	0,5	0,6
Бегеновая (C22:0)	0,4	2,4	0,3	0,7	0,6	0,2	1,2	0,3	0,3	0,3
Трикозановая (C23:0)	–	0,4	–	–	–	0,2	0,6	0,3	0,1	0,3
Лигноцериновая (C24:0)	–	2,0	–	–	–	–	2,6	0,2	0,4	0,3
Сумма насыщенных	8,9	27,8	9,9	10,2	9,8	18,4	32,8	22,9	21,9	26,6
<i>Мононенасыщенные</i>										
Пальмитолеиновая (C16:1)	0,7	5,5	7,0	1,3	1,2	0,3	0,9	0,6	0,3	0,5
Цис-10-гептадеценивая (C17:1)	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	–	–	–	–	–
Элаидиновая (C18:1 ω 9t)	54,7	37,8	44,8	53,4	54,1	6,0	16,8	7,0	6,0	7,6
Цис-11-эйкозеновая (C20:1)	2,0	6,5	1,2	1,4	1,5	0,2	–	0,1	0,1	0,1
Эруковая (C22:1n9)	1,4	1,2	0,6	0,7	0,8	–	–	–	–	–
Ацетэруковая (C24:1)	–	1,3	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Полиненасыщенные</i>										
Гепта-2,4-диеновая (C8:2)	–	–	–	–	–	33,1	12,3	29,0	33,2	22,6
Линолеиновая (C18:2 ω 6t)	22,1	7,7	26,4	23,5	23,5	26,8	23,3	27,7	29,5	34,3
Линоленовая (C18:3 ω 3)	10,1	10,2	10,0	9,4	9,0	9,6	13,3	10,7	8,3	8,0
Сумма ненасыщенных	91,1	70,7	90,1	89,8	90,2	76,0	66,6	75,1	77,4	73,1

Жирно-кислотный профиль исследуемого вторичного растительного сырья имеет ненасыщенный характер. Среди ненасыщенных жирных кислот максимальное содержание 54,7% элаидиновой кислоты (C18:1 ω 9t) имеет контрольный образец рапсового жмыха. Элаидиновая кислота представляет собой транс-изомер олеиновой кислоты

и является основной трансжирной кислотой. Трансжирные кислоты оказывают негативное влияние на сердечно-сосудистые заболевания, повышают уровень холестерина липопротеинов низкой плотности, одновременно снижая уровни холестерина липопротеинов высокой плотности (Ohmori et al., 2017). Культивирование *A. radioresistens* на рапсо-

вом жмыхе способствует снижению содержания данной кислоты по сравнению с контрольным образцом. При использовании соевого шрота в качестве субстрата на 1 сут культивирования отмечено увеличение содержания элаидиновой кислоты по сравнению с контролем, однако при последующем культивировании её содержание снижалось. Также зафиксировано высокое содержание линолеиновой кислоты (C18:2 ω 6t) — 34,3 % на 6 сут и гепта-2,4-диеновой кислоты (C8:2) — 33,2 % на 3 сут культивирования *A. radioresistens* на соевом шроте.

Положительным эффектом культивирования *A. radioresistens* на рапсовом жмыхе является снижение содержания эруковой кислоты (C22:1n9). Эруковая кислота — это общее название цис-13-докозеновой жирной кислоты, которая в повышенных концентрациях содержится главным образом в растениях семейства *Brassicaceae*, включая семена рапса и горчицы (Ozidal et al., 2021). Высокое содержание эруковой кислоты ухудшает проводимость миокарда, вызывая липидоз у детей и повышение уровня холестерина в крови, может оказывать токсический эффект. Поэтому в некоторых странах действуют правила о максимальном уровне эруковой кислоты, который составляет от 2 до 5 % от общего количества жирных кислот из-за потенциального риска для здоровья населения при превышении этого уровня. Помимо этого, эруковая кислота является антипитательным веществом для сельскохозяйственных животных (Buck et al., 2022; Konuskan et al., 2019).

Линоленовая кислота (C18:3 ω 3) считается незаменимой жирной кислотой, поскольку не синтезируется организмом человека из-за отсутствия необходимых ферментов, поэтому её нужно получать из продуктов питания. Наличие более высокого содержания линоленовой кислоты (омега-3) в рационе увеличивает уровень холестерина липопротеинов высокой плотности и снижает уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (Konuskan et al., 2019, p. 340–344). Данная кислота была обнаружена в обоих видах вторичного растительного сырья с максимальным содержанием на 1 сут культивирования *A. radioresistens*: 13,3 % на соевом шроте и 10,2 % на рапсовом жмыхе.

В обоих видах сырья было обнаружено наличие пальмитолеиновой кислоты (C16:1) и цис-11-эйкозеновой кислоты (C20:1). Пальмитолеиновая кис-

лота (пальмитолеат) представляет собой омега-7 мононенасыщенную жирную кислоту, которая вырабатывается путем липогенеза *de novo* и встречается в природных источниках. Природные источники пальмитолеата включают жирную рыбу, рыбий жир, некоторые орехи, семена и их масла. Пальмитолеат был предложен в качестве нового липокина, полученного из жировой ткани, который регулирует липогенез, действие инсулина и координирует гемостаз. Также несколько исследований показали положительное влияние пальмитолеата на факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний. Прием очищенного пальмитолеата в течение 30 дней способствует улучшению профиля липопротеинов сыворотки и уменьшению системного воспаления у взрослых с дислипидемией (Yang et al., 2019). Цис-11-эйкозеновая кислота (гондоевая кислота) мононенасыщенная омега-9 жирная кислота, которая содержится в различных растительных маслах и орехах, особенно в масле жожоба. У высших растений цис-11-эйкозеновая кислота является предшественником эруковой кислоты. Цис-11-эйкозеновая кислота имеет ряд преимуществ, например, она улучшает проникновение через кожу индометацина, который является противовоспалительным препаратом, и используется в качестве сырья для медицинского материала и увлажняющего ингредиента в косметических кремах (Varut et al., 2022).

Цис-10-гептадеценивая (C17:1) и ацетэруковая (C24:1) кислоты в количестве менее 1,5 % обнаружены при использовании рапсового жмыха в качестве субстрата.

Насыщенные жирные кислоты представлены в меньшем процентном соотношении. Максимальное значение принадлежит стеариновой кислоте (C18:0) на 1 сут культивирования *A. radioresistens* на соевом шроте (14,5 %) и на рапсовом жмыхе (12,2 %). Второе место по процентному содержанию занимает пальмитиновая кислота (C16:0). Пальмитиновая и стеариновая кислоты являются наиболее часто потребляемыми насыщенными жирными кислотами. Насыщенные жирные кислоты в целом и пальмитиновая кислота в частности вредны потому, что повышают уровень холестерина липопротеинов низкой плотности. По сравнению с пальмитиновой кислотой стеариновая кислота снижает уровень холестерина липопротеинов низкой плотности, который является хорошо известным фактором риска развития ишемической болезни сердца,

но ее влияние на другие кардиометаболические маркеры риска изучено менее подробно. Повышенный уровень циркулирующих липидов стеариновой кислоты связан со снижением артериального давления, улучшением функции сердца и снижением риска рака. Следовательно, в отличие от других насыщенных жирных кислот и вопреки общему мнению о том, что насыщенные жирные кислоты вредны, стеариновая кислота, вероятно, оказывает некоторое положительное влияние на здоровье человека. Однако, молекулярные механизмы этого процесса полностью не изучены (van Rooijen et al., 2020; Senyilmaz-Tiebe et al., 2018).

В обоих видах сырья от 0 до 4% были выявлены лауриновая (C12:0), миристиновая (C14:0), маргариновая (C17:0), арахидоновая (C20:0), бегеновая (C22:0) и лигноцериновая (C24:0) кислоты, менее 1% — пентадекановая (C15:0) и трикозановая (C23:0) кислоты.

В процессе анализа выявлены две двухосновные предельные карбоновые кислоты (малоновая и янтарная). Они содержались, в основном, в соевом шроте и их концентрация снижалась в процессе культивирования *A. radioresistens* по сравнению с контрольным образцом.

Под влиянием бактериального изолята *A. radioresistens* при использовании рапсового жмыха в качестве субстрата на 1 сут культивирования отмечен биосинтез *de novo* ряда предельных жирных кислот, таких как малоновая, янтарная, лауриновая, пентадекановая, трикозановая, лигноцериновая и одной непредельной — ацетэруковой кислоты. При использовании соевого шрота в качестве субстрата наблюдался биосинтез лигноцериновой кислоты на протяжении всего периода исследования с максимальным содержанием 2,6% на 1 сут культивирования.

По общему процентному содержанию насыщенные жирные кислоты преобладали в соевом шроте, а ненасыщенные в рапсовом жмыхе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследуемый бактериальный изолят из пшеничных отрубей *A. radioresistens* обладает способностью синтезировать гидролитические ферменты, такие как фитаза и протеиназы, специфичность действия

которых направлена на биокаталитическое расщепление соответственно фосфор- и азотсодержащих соединений. Положительным моментом является то, что выявленные уровни активностей протеаз сопоставимы с таковыми для ферментов, установленными другими исследователями, в том числе для гидролаз в составе коммерческих препаратов. Следует отметить, что представленные результаты исследований получены при культивировании изолята *A. radioresistens* на многокомпонентных субстратах, которыми являются рапсовый жмых и соевый шрот и в микробиоте которых бактерии данного вида не обнаружены. Полученные данные о фазовом характере изменения как протеолитической, так и фитазной активностей, в процессе ферментации, свидетельствуют, предположительно, об активизации окислительно-восстановительных процессов, обеспечивающих дыхание клетки и требующих синтеза оксидоредуктаз, что может тормозить накопление гидролаз для потребления субстратов. Другим возможным объяснением может быть конкурентное специфическое для изучаемых гидролаз субстратов и ингибиторов ферментативной активности за связывание с активными центрами и/или функциональными участками ферментов. Высказанные предположения требуют более детального исследования обменных процессов для установления режимов, обеспечивающих стабильное продуцирование протеиназы и фитазы изучаемым изолятом, как перспективным промышленным продуцентом востребованных гидролаз.

Интерес представляют результаты изучения состава сахаров в процессе ферментации вторичного сырья, а именно количество мальтозы и глюкозамина. Заметное количественное изменение мальтозы предполагает, что она является предпочтительным субстратом для исследуемого изолята *A. radioresistens*, как при ферментации рапсового жмыха, так и соевого шрота. Возможно, что ее ферментативная биотрансформация до глюкозы способствует в определенной мере накоплению глюкозамина, что более выражено при ферментации соевого шрота.

Жирно-кислотный состав, полученный в результате ферментации изолятом *A. radioresistens*, свидетельствует о возможности снижения содержания во вторичном сырье антипитательных веществ, в частности, эруковой кислоты, и повышения количества полезных жирных кислот. Установленные

закономерности изменения жирно-кислотного состава полезны для разработки в перспективе технологии переработки вторичного сырья в обогащенные полезными компонентами продукты, как кормового, так и пищевого назначения, при условии предварительной оценки их безопасности.

Экспериментальные данные, полученные в результате культивирования *A. radioresistens* на вторичном растительном сырье, могут быть использованы для получения биологически активных соединений и кормовых продуктов для сельскохозяйственных животных. Также данные исследования представляют интерес для перерабатывающей промышленности при разработке способов высокоэффективной переработки растительных отходов с помощью биотехнологических процессов.

Дальнейшая работа направлена на расширение способов использования вторичных растительных отходов в качестве субстратов для промышленных продуцентов биологически активных соединений

и подбор параметров обработки сырья для увеличения выхода целевого продукта.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Белова Дарья Дмитриевна: анализ литературных источников и подготовка статьи.

Принцева Анастасия Андреевна: проведение исследований.

Непомнящий Анатолий Павлович: проведение исследований.

Сорокоумов Павел Николаевич: проведение исследований.

Шарова Наталья Юрьевна: руководитель исследования, концептуализация, методология, редактирование статьи.

ЛИТЕРАТУРА

- Анашкина, И. И., Кравцова, Е. В., & Портнова, А.В. (2023). Получение микробных протеолитических препаратов для переработки отходов зернового производства. Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. *Химическая технология и биотехнология*, (2), 64-80.
- Anashkina, I. I., Kravtsova, E. V., & Portnova, A.V. (2023). Obtaining microbial proteolytic preparations for processing grain production waste. *Bulletin of Perm National Research Polytechnic University. Chemical Technology and Biotechnology*, (2), 64-80. (In Russ.)
- Ланцева, Н. Н., Смирнов, П. Н., Швыдков, А. Н., Рябуха, Л. А., Усова, Т. В., & Мартыщенко, А. Е. (2016). Сравнительная биологическая характеристика МКД разных серий, приготовленных к использованию в бройлерном птицеводстве. *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет)*, 4(41), 40-47.
- Lantseva, N. N., Smirnov, P. N., Shvydkov, A. N., Ryabukha, L. A., Usova, T. V., & Martyschenko, A. E. (2016). Comparative biological characteristics of mixed fodder granules of different series prepared for use in broiler farming. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*, 4(41), 40-47. (In Russ.)
- Свердлова, О. П., Шарова, Н. Ю., Причепка, А. О., Лоскутов, С. И., & Принцева, А. А. (2022). Идентификация аборигенной микрофлоры пшеничных отрубей: бактериальные изоляты — потенциальные промышленные продуценты. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (3), 78-92. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.294>
- Sverdlova, O. P., Sharova, N. Yu., Prichepa, A. O., Loskutov, S. I., & Printseva, A. A. (2022). Identification of indigenous microflora of wheat bran: bacterial isolates — Potential industrial producers. *Storage and Processing of Farm Products*, (3), 78-92. (In Russ.) <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.294>
- Arrutia, F., Binner, E., Williams, P., & Waldron, K. W. (2020). Oilseeds beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein requirements. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 88-102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.044>
- Barut, M., Tansi, L. S., Diraz-Yıldırım, E., & Karaman, S. (2022). Seed and fruit fatty acid compositions of *Crambe orientalis* and *Crambe tataria* oils collected from three different provinces in Turkey. *Journal of Agriculture and Nature*, 25(Suppl 2), 452-461. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.1004020>
- Bond, J. S. (2019). Proteases: History, discovery, and roles in health and disease. *Journal of Biological Chemistry*, 294(5), 1643-1651. <https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.004156>
- Buck, S. P., Pegg, R. B., & Tyl, C. (2022). Oxidative stability of oil obtained from a low-erucic acid pennycress (*Thlaspi arvense* L.) mutant with potential for food use. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 124(7), 2200053. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202200053>
- Dahal, U., Paul, K., & Gupta, S. (2023). The multifaceted genus *Acinetobacter*: From infection to bioremediation. *Journal of Applied Microbiology*, 134(8), 1-18. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad145>

- de Oliveira Costa, L. E., Ribeiro Corrêa, T. L., Teixeira, J. A., de Araújo, E. F., & de Queiroz, M. V. (2018). Endophytic bacteria isolated from *Phaseolus vulgaris* produce phytases with potential for biotechnology application. *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 5(11), 657-671. <https://doi.org/10.21472/bjbs.051105>
- Gocheva, Y., Engibarov, S., Lazarkevich, I., & Eneva, R. (2023). Phytases – Types, sources, and factors affecting their activity. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 39(3), 249-263. <https://doi.org/10.59393/amb23390305>
- Joudaki, H., Aria, N., Moravej, R., Yazdi, M. R., Emami-Karvani, Z., & Hamblin, M. R. (2023). Microbial phytases: Properties and applications in the food industry. *Current Microbiology*, 80, 374. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03471-1>
- Konuskan, D. B., Arslan, M., & Oksuz, A. (2019). Physicochemical properties of cold pressed sunflower, peanut, rapeseed, mustard and olive oils grown in the Eastern Mediterranean region. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(2), 340-344. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.04.005>
- Liu, L., Liu, Y., Shin, H.-d., Chen, R., Li, J., Du, G., & Chen, J. (2013). Microbial production of glucosamine and N-acetylglucosamine: Advances and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 6149-6158. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4995-6>
- Liu, Y., Wang, W., Shah, S. B., Zanolli, G., Xu, P., & Tang H. (2020). Phenol biodegradation by *Acinetobacter radioresistens* APH1 and its application in soil bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(1), 427-437. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10271-w>
- Ohmori, H., Fujii, K., Kadochi, Y., Mori, S., Nishiguchi, Y., Fujiwara, R., Kishi, S., Sasaki, T., & Kuniyasu, H. (2017). Elaidic acid, a trans-fatty acid, enhances the metastasis of colorectal cancer cells. *Pathobiology*, 84(3), 144-151. <https://doi.org/10.1159/000449205>
- Ozidal, T., & Omeroglu, P. Y. (2021). Investigation of fatty acid composition including trans fatty acids and erucic acid in selected salty snack foods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15791. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15791>
- Pirog, T. P., Lutsai, D. A., & Muchnyk, F. V. (2021). Biotechnological potential of the *Acinetobacter* genus bacteria. *Mikrobiolohichniy Zhurnal*, 83(3), 92-109. <https://doi.org/10.15407/microbiolj83.03.092>
- Sadh, P. K., Kumar, S., Chawla, P., & Duhan, J. S. (2018). Fermentation: A boon for production of bioactive compounds by processing of food industries wastes (by-products). *Molecules*, 23(10), 2560. <https://doi.org/10.3390/molecules23102560>
- Senyilmaz-Tiebe, D., Pfaff, D. H., Virtue, S., Schwarz, K. V., Fleming, T., Altamura, S., Muckenthaler, M. U., Okun, J. G., Vidal-Puig, A., Nawroth, P., & Telean, A. A. (2018). Dietary stearic acid regulates mitochondria in vivo in humans. *Nature Communications*, 9, 3129. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05614-6>
- Soghandi, B., & Salimi, F. (2023). Study on amendment of rapeseed meal, soybean meal, and NPK fertilizer as biostimulants in bioremediation of diesel-contaminated soil by autochthonous microorganisms. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 1-21. <https://doi.org/10.1080/15320383.2023.2211676>
- Solanki, P., Putatunda, C., Kumar, A., Bhatia, R., & Walia, A. (2021). Microbial proteases: Ubiquitous enzymes with innumerable uses. *Biotech*, 11, 428. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02928-z>
- Song, P., Zhang, X., Wang, S., Xu, W., Wang, F., Fu, R., & Wei, F. (2023). Microbial proteases and their applications. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1236368. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1236368>
- Sousa, D., Salgado, J. M., Cambra-López, M., Dias, A., & Belo, I. (2023). Biotechnological valorization of oilseed cakes: Substrate optimization by simplex centroid mixture design and scale-up to tray bioreactor. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 17(1), 121-134. <https://doi.org/10.1002/bbb.2428>
- Sousa, D., Salgado, J. M., Cambra-López, M., Dias, A., & Belo, I. (2023). Bioprocessing of oilseed cakes by fungi consortia: Impact of enzymes produced on antioxidants release. *Journal of Biotechnology*, 364, 5-12. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.01.008>
- Sousa, D., Simões, L., Oliveira, R., Salgado, J. M., Cambra-López, M., Belo, I., & Dias, A. (2023). Evaluation of biotechnological processing through solid-state fermentation of oilseed cakes on extracts bioactive potential. *Biotechnology Letters*, 45, 1293-1307. <https://doi.org/10.1007/s10529-023-03417-4>
- Tatta, E. R., Imchen, M., Moopantakath, J., & Kumavath, R. (2022). Bioprospecting of microbial enzymes: current trends in industry and healthcare. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 1813-1835. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11859-5>
- Thapa, S., Li, H., OHair, J., Bhatti, S., Chen, F.- C., Nasr, K. A., Johnson, T., & Zhou, S. (2019). Biochemical characteristics of microbial enzymes and their significance from industrial perspectives. *Molecular Biotechnology*, 61, 579-601. <https://doi.org/10.1007/s12033-019-00187-1>
- van Rooijen, M. A., & Mensink, R. P. (2020). Palmitic acid versus stearic acid: Effects of interesterification and intakes on cardiometabolic risk markers – A systematic review. *Nutrients*, 12(3), 615. <https://doi.org/10.3390/nu12030615>
- Wang, S., Hu, Y., & Wang, J. (2018). Biodegradation of typical pharmaceutical compounds by a novel strain *Acinetobacter* sp. *Journal of Environmental Management*, 217, 240-246. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.096>
- Wongsirichot, P., Gonzalez-Miquel, M., & Winterburn, J. (2022). Recent advances in rapeseed meal as alternative feedstock for industrial biotechnology. *Biochemical Engineering Journal*, 180, 108373. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108373>
- Yang, Y., Wang, J., Yao, M., Li, X., Lu, X., He, J., Zhang, H., Tian, B., & Zhou, J. (2023). An update on the review of microbial synthesis of glucosamine and N-acetylglucosamine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39, 93. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03531-5>
- Yang, Z. -H., Pryor, M., Noguchi, A., Sampson, M., Johnson, B., Pryor, M., Donkor, K., Amar, M., & Remaley, A. T. (2019). Dietary palmitoleic acid attenuates atherosclerosis progression and hyperlipidemia in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(12), 1900120. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900120>