

**ИЗУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ВОДОРОДНОЙ БАКТЕРИИ
RALSTONIA EUTROPHA B5786 МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ
ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

Зубченко О.А.

научный руководитель д-р биол. наук Калачёва Г.С.

Сибирский федеральный университет

В настоящее время белок является наиболее дефицитным компонентом. Мировая потребность белка удовлетворяется только на 40 %. Поэтому нахождение эффективных способов увеличения ресурсов белка для прямого или непрямого (через организм сельскохозяйственных животных) увеличения пищевых ресурсов является одной из основных задач научно-технического прогресса.

Нетрадиционным и принципиально новым способом получения белковых веществ является микробиологический синтез. По скорости роста микроорганизмы превосходят сельскохозяйственные культуры в сотни, а животных – в тысячи раз. Поэтому микробиологический синтез с большей эффективностью использует материальные и энергетические ресурсы, не требует больших земельных площадей и не зависит от погодных и климатических условий и не загрязняет окружающую среду ядохимикатами, так как не использует пестициды. Качество микробных белков близко белкам животного происхождения.

В ранних исследованиях по водородному биосинтезу, проводимых в Институте биофизики СО РАН, была показана перспективность использования биомассы хемосинтезирующих микроорганизмов в качестве источников кормового и пищевого белка. Для оценки кормовой и пищевой ценности такой биомассы необходимо прежде всего изучить ее аминокислотный состав. Белок одноклеточных должен удовлетворять ряду специальных требований. Главными являются: питательность, переваримость, экономическая эффективность.

Объектом исследования была выбрана водородокисляющая грамотрицательная литоавтотрофная бактерия *Ralstonia eutropha* B5786, которая использует CO₂ и H₂ в качестве источников углерода и энергии в отсутствие энергетического субстрата. Оптимизация условий культивирования данного штамма способствует обогащению бактериальных клеток белком, содержание которого достигает 50-70% от сухого веса клеток.

Суспензию бактериальных клеток, выращенных на фруктозе, сепарировали с помощью центрифугирования. В результате произошло разделение на биомассу и культуральную жидкость. Культуральную жидкость сливали, а биомассу использовали для дальнейших анализов.

С помощью ионообменной хроматографии проводили фракционирование аминокислот белковых гидролизатов с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, на аминокислотном анализаторе A0326V2 (Knauer, Германия). Принцип его действия основан на разделении природных и синтетических смесей веществ на хроматографической колонке и последующем детектировании компонентов.

50 мг пробы переносили в ампулу из толстого стекла 12x120 мм и добавляли 20 мл 6N HCl. Ампулу запаивали, гидролиз сухого остатка проводили в термостате при 1100°C в течение 22 часов. После гидролиза содержимое ампулы охлаждали, фильтровали и переносили в выпарительную чашку. Выпаривание производили на кипящей водяной бане. Сухой остаток растворяли в 20 мл буфера при pH 2.2, отбирали

1900 мкл и добавляли 100 мкл диметилсульфоксида (ДМС). 100 мкл раствора пропускали через специальный патрон для очистки раствора аминокислот от примесей. Патрон промывали 1000 мкл буфера (буфер рН2.2 + 5% (ДМС). Анализ проводили на аминокислотном анализаторе А0326V2 (Knauer, Германия). На колонку А0992-13v1 наносили 20 мкл образца, разделение аминокислот проходило в градиенте температуры и элюента по прописи, предлагаемой фирмой. Задание условий хроматографирования, расшифровка хроматограмм по предлагаемому фирмой стандарту и обсчет результатов проводили по специальной программе, прилагаемой к прибору.

Таблица - Содержание аминокислот в биомассе *Ralstonia eutropha* В5786 (% от сухого вещества)

Аминокислота	Шрот 1	Шрот 2	Проба 1	Проба 2
Валин	3,4	4,2	3,36	3,04
Метионин	0,3	1,7	0,27	0,21
Изолейцин	2,4	3,0	2,41	2,22
Лейцин	4,1	5,7	4,1	3,82
Тирозин	1,7	2,4	1,7	1,63
Фенилаланин	2,1	2,9	2,06	1,83
Лизин	2,3	4,6	2,26	2,96
Треонин	2,8	3,5	2,76	2,64
Сумма незаменимых	18,9	28,0	18,92	18,35
Аспарагин	4,5	6,7	4,54	4,35
Серин	1,7	2,7	1,71	1,68
Глутаминовая кислота	5,5	8,3	5,51	5,10
Глицин	2,9	4,0	2,86	2,76
Аланин	4,3	6,0	4,32	4,29
Цистеин	0,2	0,4	0,15	сл
Гистидин	1,2	1,3	1,17	1,08
Аргинин	3,4	4,8	3,37	3,18

По результатам исследования белки бактерии *Ralstonia eutropha* имели полноценный аминокислотный состав, который характеризовался высоким содержанием аспарагиновой и глутаминовой кислоты, аланина, аргинина, лейцина и валина. Низкие значения отмечены для серосодержащих аминокислот (метионина и цистеина) и гистидина.

Использование белков этих бактерий в качестве добавок к диете человека и корму животных несомненно представляет интерес в связи с достаточно высоким качеством этих белков. При сравнении аминокислотного состава бактерий с аминокислотными графиками традиционных пищевых и кормовых продуктов заметно их существенное сходство. В то же время по содержанию таких незаменимых кислот как лизин и метионин бактерии ближе к животным белкам, чем к растительным.