

Разработка технологии приготовления ферментативного гидролизата отработанных куриных эмбрионов

Ю. С. Овсянников, М. С. Дурсенев*

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вятский государственный агротехнологический университет», Октябрьский проспект, д. 133, Киров, 610017, Российская Федерация

Перспективным направлением в биотехнологии является разработка технологий изготовления питательных основ микробиологических питательных сред (ПС), в которых в качестве белкового сырья используют отходы производства, как правило, недефицитных и непищевых продуктов. Сотрудниками Вятского государственного агротехнологического университета предлагается использовать для этих целей непищевое вторичное сырье — отработанные куриные эмбрионы (ОКЭ), которые после извлечения вирусосодержащей аллантаической жидкости являются отходами производства противогриппозных препаратов. **Цель работы:** разработка технологии приготовления ферментативного гидролизата ОКЭ и оценка ростовых свойств плотной ПС на его основе с использованием тест-штаммов *Escherichia coli* M-17 и *Pseudomonas alcaligenes* IP-1. **Материалы и методы:** предложены методические подходы получения ферментативного гидролизата отработанных куриных эмбрионов (ФГОКЭ), обоснованы параметры процесса гидролиза. Разработанный ФГОКЭ оценен по физико-химическим показателям: pH; содержание аминного азота, общего азота, натрия хлорида, степень расщепления белка. Ростовые свойства ПС, приготовленной на основе разработанного гидролизата, исследовали с использованием тест-штаммов *E. coli* M-17 и *Ps. alcaligenes* IP-1. **Результаты:** экспериментально показана возможность ферментативного гидролиза ОКЭ. Изучены физико-химические показатели приготовленных серий ФГОКЭ. Показана возможность использования приготовленного гидролизата в составе плотной ПС для выращивания выбранных тест-штаммов. **Выводы:** обоснованы оптимальные технологические параметры ферментативного гидролиза ОКЭ: pH (7,6 ± 0,3), продолжительность (48 ± 2) ч, температура (49 ± 1) °C; оптимизирована загрузка компонентов гидролиза: массовая доля субстрата 500 г/л, массовая доля гидролизующего агента 100 г/л. ФГОКЭ по своим физико-химическим показателям пригоден для конструирования микробиологических сред; плотная ПС на основе экспериментального гидролизата стабильно обеспечивает рост тест-штаммов *E. coli* M-17 и *Ps. alcaligenes* IP-1 с типичными свойствами; ростовые свойства экспериментальной среды сопоставимы с таковыми ПС, приготовленной на основе мясо-пептонного бульона.

Ключевые слова: технология; куриные эмбрионы; непищевое сырье; питательная среда; ферментативный гидролизат; ферментативный гидролиз

Для цитирования: Овсянников ЮС, Дурсенев МС. Разработка технологии приготовления ферментативного гидролизата отработанных куриных эмбрионов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(3):200–205. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-3-200-205>

* **Контактное лицо:** Дурсенев Максим Сергеевич; Maks.Xitman@mail.ru

Development of the technology for preparation of enzymatic hydrolysate of waste chick embryos

Yu. S. Ovsyannikov, M. S. Dursenev*

Vyatka State Agrotechnological University, 133 Oktyabrsky Avenue, Kirov 610017, Russian Federation

The development of technologies for preparation of protein nutritional bases for microbiological nutrient media, from production waste of mainly readily available or non-food products, is a promising area in biotechnology. Researchers of Vyatka State Agrotechnological University assume that non-food secondary raw materials, such as waste chick embryos (WCEs) used in the production of anti-influenza products, could be used for these purposes, after removal of the virus-containing allantoic fluid. **The aim of the study** was to develop a technology for preparation of WCE enzymatic hydrolysate (WCEEH), and to evaluate growth properties of the hydrolysate-based solid nutrient medium, using *Escherichia coli* M-17 and *Pseudomonas alcaligenes* IP-1 test strains. **Materials and methods:** the authors offer methodological approaches to obtaining WCEEH and substantiate hydrolysis parameters. The obtained WCEEH was characterised in terms of physico-chemical properties: pH, amine nitrogen, total nitrogen, sodium chloride, degree of protein cleavage. The growth properties of the hydrolysate-based nutrient medium were studied using *E. coli* M-17 and *Ps. alcaligenes* IP-1 test strains. **Results:** the experiments demonstrated the feasibility of performing enzymatic hydrolysis of WCEs, and assessed physico-chemical properties of the prepared WCEEH batches. The study demonstrated the possibility of using the prepared hydrolysate as a component of solid nutrient media for growing the selected test strains. **Conclusions:** the study substantiated the optimal technological parameters for WCE enzymatic hydrolysis: pH (7.6 ± 0.3), duration (48 ± 2 h), temperature (49 ± 1) °C. The loading of hydrolysis components was optimised: mass fraction of the substrate—500 g/L, mass fraction of the hydrolysing agent—100 g/L. The physico-chemical properties of WCEEH make it suitable for preparation of microbiological media; the hydrolysate-based solid nutrient medium consistently ensures the growth of *E. coli* M-17 and *Ps. alcaligenes* IP-1 test strains with standard properties. The growth properties of the experimental medium are comparable to those of the meat-peptone broth-based nutrient medium.

Key words: technology; chick embryos; non-food raw materials; growth medium; enzymatic hydrolysate; enzymatic hydrolysis

For citation: Ovsyannikov YuS, Dursenev MS. Development of the technology for preparation of enzymatic hydrolysate of waste chick embryos. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение* = *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021;21(3):200–205. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-3-200-205>

***Corresponding author:** Maksim S. Dursenev; Maks.Xitman@mail.ru

Получение белковых гидролизатов как источника аминокислот и пептидов нашло свое применение в биотехнологии для приготовления питательных основ (ПО), входящих в состав микробиологических питательных сред (ПС), которые являются источником питания микроорганизмов при их культивировании [1–3]. Для нормального обеспечения развития бактериальных клеток необходим азот органических соединений, который они получают благодаря правильно подобранной питательной основе — белковым гидролизатам¹.

Питательная ценность и свойства белковых гидролизатов обусловлены исходным сырьем и способом гидролиза. Для их производства может служить любое полноценное по аминокислотному составу сырье, содержащее природные белки [4–9]. Одним из перспективных направлений в биотехнологии является поиск и активное привлечение новых источников белкового сырья в производство питательных основ и сред. Примером такого сырья могут служить отработанные куриные эмбрионы (ОКЭ), являющиеся отходами производства противогриппозных препаратов. Применение этого сырья для получения ПС вполне обосновано, так как известны высокие ростовые свойства яичных сред, а также наличие биостимуляторов роста микроорганизмов в экстракте куриных эмбрионов [1, 10].

Важным аспектом при производстве гидролизатов является выбор способа их получения.

Ранее нами были проведены исследования по созданию кислотных гидролизатов из ОКЭ [11, 12]. В качестве гидролизующего агента использовались соляная и серная кислоты. Наличие в ПС хлорид-ионов или сульфат-ионов, накапливаемых при использовании кислотных гидролизатов, избирательно для ряда микроорганизмов. Избыточное количество этих ионов бывает нежелательно и может ингибировать биотехнологические процессы [1, 13–16].

Цель исследования — разработка технологии приготовления ферментативного гидролизата ОКЭ (ФГОКЭ) и оценка ростовых свойств плотной ПС на его основе с использованием тест-штаммов *Escherichia coli* M-17 и *Pseudomonas alcaligenes* IP-1.

Материалы и методы

Материалы:

- 12-суточные куриные эмбрионы, после извлечения вирусосодержащей аллантоисной жидкости предоставленные АО НПО «Микроген»;
- поджелудочные железы (ПЖ) крупного рогатого скота ГОСТ 11285–2017²;
- плотная ПС на основе ФГОКЭ лабораторного приготовления, pH 7,2;
- мясо-пептонный бульон (МПБ) производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере

защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, pH 7,2.

Ростовые свойства ПС, приготовленной на основе разрабатываемого гидролизата, исследовали с использованием тест-штаммов *Escherichia coli* M-17 и *Pseudomonas alcaligenes* IP-1 из коллекции микроорганизмов кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Вятский ГАТУ.

Используемое сырье, реактивы и препараты отвечали требованиям действующих ГОСТ, ТУ, ОСТ.

Методы

ФГОКЭ оценивали по физико-химическим показателям³: pH (потенциометрическим методом); содержание аминного азота $N_{ам}$ (методом Зеренсен–Гаврилова); содержание общего азота (методом Кьельдаля); содержание натрия хлорида (аргентометрическим титрованием по методу Мора), степень расщепления белка (СРБ) рассчитывали по соотношению величин аминного и общего азота в процентном эквиваленте.

Выращивание культур осуществляли на экспериментальной ПС и контрольной. Выращивание тест-штамма *E. coli* M-17 проводили на чашках Петри при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение двух суток. Выращивание тест-штамма *Ps. alcaligenes* IP-1 осуществляли на чашках Петри при температуре $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ также в течение двух суток. Рост культуры оценивали в динамике, через 24 и 48 ч путем определения количества выросших колоний и их размера. Характер роста культуры и типичность морфологических свойств колоний оценивали визуально.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью программы Microsoft Excel. Статистическую значимость средних значений оценивали с применением непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни (программа Statistica 10.0).

Результаты и обсуждение

Подготовка ОКЭ к гидролизу была проведена по ранее предложенному способу [11], которая заключалась в их санитарной обработке, измельчении и автоклавировании, обеспечивающих обеззараживание отходов вакцинного производства.

В лабораторных условиях спланирован и проведен опыт по получению ФГОКЭ. В качестве гидролизующего агента использовали ПЖ крупного рогатого скота. Выбор оптимального соотношения компонентов гидролиза проводили при помощи факторного метода планирования эксперимента. Для этого был спланирован и проведен опыт по методу латинских прямоугольников [17].

Планирование эксперимента позволило получить математическую модель, связывающую выходные параметры (факторы варьирования) с входными. Факторами варьирования были выбраны массовая доля субстрата и массовая доля гидролизу-

¹ Шепелин АП. Разработка технологии производства панкреатического гидролизата рыбной муки и конструирование на его основе бактериологических питательных сред: дис. ... д-ра биол. наук. М.: 2013.

² ГОСТ 11285–2017. Железы поджелудочные крупного рогатого скота и свиней замороженные. Технические условия.

³ Методические указания МУК 4.2.2316–08. Методы контроля бактериологических питательных сред. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2008.

ющего агента ПЖ. В качестве выходного параметра — значение аминного азота.

Для определения оптимальных значений данных факторов была составлена схема планирования эксперимента. Схема опыта составлена по принципу сочетания каждого уровня любого фактора одинаковым количеством раз со всеми уровнями остальных факторов. Следует отметить, что при планировании и реализации эксперимента температура, pH реакционной смеси и продолжительность гидролиза оставались в заданных границах.

При осуществлении процесса гидролиза с варьированной загрузкой субстрата и гидролизующего агента проводили контроль значения аминного азота. Значение последнего находилось в пределах от 0,081 до 0,256%. Массовая доля субстрата варьировалась от 100 до 500 г/л, а массовая доля гидролизующего агента — от 50 до 125 г/л. На основании указанных данных определяли оптимальную загрузку сырья и гидролизующего агента путем расчета эффектов действующих факторов. По данным расчетов установлено, что оптимальная массовая доля субстрата — 500 г/л, а оптимальная массовая доля гидролизующего агента — 100 г/л. Исходя из полученных данных были приготовлены экспериментальные серии ФГОКЭ.

Ферментативный гидролиз белков животного происхождения предусматривает ведение процесса при pH от 7,0 до 8,0, при этом время гидролиза колеблется от 2 до 7 суток в зависимости от температуры гидролиза [1–3, 6, 15]. В данной работе установлено, что гидролизующий агент ПЖ проявляет свою максимальную активность при pH от 7,3 до 7,9 и температуре от 48 до 50 °С. При данных условиях был проведен ферментативный гидролиз ОКЭ. В течение всего процесса контролировали содержание аминного азота в смеси. Нарастание данного параметра прекратилось на 48 ч

гидролиза, что позволяет нам сделать вывод о завершении расщепления белка в смеси. Таким образом, были определены технологические параметры ферментативного гидролиза ОКЭ. Данные представлены в таблице 1.

По разработанной технологии были приготовлены три серии ФГОКЭ. Полученные образцы экспериментальных серий были темно-желтого цвета, прозрачные, имели характерный яичный запах. Физико-химические характеристики экспериментальных серий представлены в таблице 2. Для сравнения в таблице 2 представлены физико-химические характеристики МПБ.

Из данных, представленных в таблице 2, следует, что приготовленные серии ФГОКЭ по изучаемым показателям сопоставимы между собой. Что касается сравнения ФГОКЭ и МПБ, то по СРБ ферментативный гидролизат ОКЭ превосходит ПС, приготовленную из МПБ. Содержание хлоридов в экспериментальном гидролизате во всех трех сериях практически отсутствует, что необходимо учитывать при конструировании ПС. На основании полученных физико-химических характеристик экспериментальных серий гидролизата для оценки возможности использования ФГОКЭ в качестве основы ПС была выбрана серия 2.

Для изучения ростовых свойств экспериментальной плотной ПС использовали тест-штамм *E. coli* M-17 и *Ps. alcaligenes* IP-1. В качестве контрольной среды выбрана плотная ПС на основе МПБ. В таблице 3 представлены прописи экспериментальной и контрольной плотных ПС.

Сравнительная оценка роста тест-штаммов *E. coli* M-17 и *Ps. alcaligenes* IP-1 на контрольной и экспериментальной ПС представлена в таблицах 4 и 5.

Культура *E. coli* при росте на всех плотных ПС образовывала типичные круглые с гладкой, выпуклой поверхностью, ровными краями непрозрачные колонии сероватого цвета.

Таблица 1. Технологические параметры ферментативного гидролиза отработанных куриных эмбрионов
Table 1. Technological parameters of enzymatic hydrolysis of waste chick embryos

Параметр Parameter	Значение параметра Value
pH	7,6 ± 3,0
Продолжительность гидролиза, ч Duration of hydrolysis, h	48 ± 2,0
Температура гидролиза, °С Hydrolysis temperature, °C	49 ± 1,0

Таблица 2. Физико-химические показатели экспериментальных серий ферментативного гидролизата отработанных куриных эмбрионов
Table 2. Physico-chemical properties of the experimental batches of the enzymatic hydrolysate of waste chick embryos

Показатель Test parameter	Значение показателя для МПБ ($\bar{X} \pm I_{95\%}, n = 3$) Value for MPB ($\bar{X} \pm I_{95\%}, n = 3$)	Значение показателя для ФГОКЭ Value for WCEEH		
		серия 1 batch 1	серия 2 batch 2	серия 3 batch 3
Массовая доля аминного азота, % Amine nitrogen content, %	0,10 ± 0,02	0,199	0,195	0,192
Массовая доля общего азота, % Total nitrogen content, %	0,43 ± 0,07	0,355	0,349	0,343
pH	7,20 ± 0,14	7,40	7,10	7,25
Массовая доля натрия хлорида, % Total sodium chloride content, %	0,10 ± 0,03	0,03	0,03	0,03
Массовая доля сухого остатка, % Dry residue, %	3,06 ± 0,56	6,6	6,7	6,7
СРБ, % Degree of protein cleavage, %	25,04 ± 3,16	56	56	56

Примечание. ФГОКЭ — ферментативный гидролизат отработанных куриных эмбрионов; МПБ — мясо-пептонный бульон; СРБ — степень расщепления белка.

Note. WCEEH—waste chick embryo enzymatic hydrolysate; MPB—meat-peptone broth.

Таблица 3. Состав плотных питательных сред
Table 3. Composition of solid nutrient media

Ингредиенты Components	Состав плотной ПС на основе Composition of a solid nutrient medium based on	
	ФГОКЭ (экспериментальная) WCEEH (test)	МПБ (контрольная) MPB (control)
ПО NB	Разведенная дистиллированной водой до величины $N_{ам} = (0,100 \pm 0,05)\%$, из расчета на 1 дм ³ ПС Diluted in distilled water to $N_{ам} = (0,110 \pm 0,05)\%$, calculated for 1 dm ³ of NM	1 дм ³ 1 dm ³
NaCl, г/дм ³ NaCl, g/dm ³	5	—
KCl, г/дм ³ KCl, g/dm ³	0,2	0,2
Na ₂ HPO ₄ , г/дм ³ Na ₂ HPO ₄ , g/dm ³	1	1
Агар, г/дм ³ Agar, g/dm ³	20	20

Примечание. ПС — питательная среда; ФГОКЭ — ферментативный гидролизат отработанных куриных эмбрионов; МПБ — мясо-пептонный бульон; ПО — питательная основа; N_{ам} — массовая доля аминного азота. «—» — данный компонент не вносили в питательную среду.
Note. NM—nutrient medium; WCEEH—waste chick embryo enzymatic hydrolysate; MPB—meat-peptone broth; NB—nutritional base; N_{ам}—mass fraction of amine nitrogen. —the component was not added to the nutrient medium.

Таблица 4. Сравнительная оценка роста тест-штамма *E. coli* M-17 на контрольной и экспериментальной средах
Table 4. Comparative assessment of the *E. coli* M-17 test strain growth on the control and test media

ПС на основе Nutrient medium based on	Продолжительность культивирования, ч Duration of cultivation, h	КОЕ/см ³ ($\bar{X} \pm I_{95}, n = 6$) CFU/cm ³ ($\bar{X} \pm I_{95}, n = 6$)	Размер колоний, мм Colony size, mm
ФГОКЭ (экспериментальная) WCEEH (test)	24	36,0 ± 2,06	2–3
	48	45,0 ± 2,34	3–4
МПБ (контрольная) MPB (control)	24	37,0 ± 1,08	2–3
	48	49,0 ± 2,48	3–4

Примечание. ПС — питательная среда; ФГОКЭ — ферментативный гидролизат отработанных куриных эмбрионов; МПБ — мясо-пептонный бульон; КОЭ — колониеобразующие единицы. Посевная доза составила 50 КОЭ/см³.
Note. NM—nutrient medium; WCEEH—waste chick embryo enzymatic hydrolysate; MPB—meat-peptone broth; CFU—colony-forming unit. The seeding dose was 50 CFU/cm³.

Таблица 5. Сравнительная оценка роста тест-штамма *Ps. alcaligenes* IP-1 на контрольной и экспериментальной средах
Table 5. Comparative assessment of the *Ps. alcaligenes* IP-1 test strain growth on the control and test media

ПС на основе Nutrient medium based on	Продолжительность культивирования, ч Duration of cultivation, h	КОЕ/см ³ ($\bar{X} \pm I_{95}, n = 6$) CFU/cm ³ ($\bar{X} \pm I_{95}, n = 6$)	Размер колоний, мм Colony size, mm
ФГОКЭ (экспериментальная) WCEEH (test)	24	36,00 ± 2,06	2–3
	48	48,00 ± 3,09	3–4
МПБ (контрольная) MPB (control)	24	38,00 ± 2,14	2–3
	48	50,00 ± 2,7	3–4

Примечание. ПС — питательная среда; ФГОКЭ — ферментативный гидролизат отработанных куриных эмбрионов; МПБ — мясо-пептонный бульон; КОЭ — колониеобразующие единицы. Посевная доза составила 50 КОЭ/см³.
Note. NM—nutrient medium; WCEEH—waste chick embryo enzymatic hydrolysate; MPB—meat-peptone broth; CFU—colony-forming unit. The seeding dose was 50 CFU/cm³.

Культура *Ps. alcaligenes* при росте как на экспериментальной, так и на контрольной плотных ПС образовывала типичные желтоватые колонии с тонкими, неровными, «ползущими» краями.

Как следует из данных, представленных в таблицах 4 и 5, при одинаковом количестве выросших на экспериментальной и контрольной ПС колоний их размер на экспериментальной среде незначительно уступает по данному показателю колониям микроорганизмов, выросшим на контрольной ПС. Рост

свойства экспериментальной среды сопоставимы с таковыми питательной среды, приготовленной на основе МПБ.

Выводы

1. В результате проведенного исследования обоснованы оптимальные технологические параметры ферментативного гидролиза ОКЭ: рН (7,6 ± 0,3), продолжительность (48 ± 2) ч, температура (49 ± 1) °С.

2. Оптимизирована загрузка компонентов для проведения гидролиза: массовая доля субстрата 500 г/л, массовая доля гидролизующего агента 100 г/л.

3. Полученная белковая основа микробиологических ПС, ФГОКЭ по своим физико-химическим показателям качества пригодна для конструирования микробиологических сред.

4. Плотная ПС на основе экспериментального гидролизата стабильно обеспечивает рост тест-штаммов *E. coli* M-17 и *Ps. alcaligenes* IP-1 с типичными свойствами. Ростовые свойства экспериментальной среды сопоставимы с таковыми питательной среды, приготовленной на основе мясо-пептонно-го бульона.

5. Дальнейшие исследования целесообразно направить на оптимизацию ПС для конкретного микроорганизма.

Вклад авторов. Ю. С. Овсянников — формирование концепции статьи, написание текста рукописи, окончательное утверждение версии рукописи для публикации; М. С. Дурсенев — экспериментальная работа по определению показателей качества ферментативных гидролизатов и питательных сред, статистическая обработка результатов исследований, сбор информации, изложенной в научной литературе, работа с табличным материалом, редактирование рукописи.

Authors' contributions. Yuriy S. Ovsyannikov—elaboration of the concept of the paper; writing of the text, approval of the final version of the paper for publication; Maksim S. Dursenev—experimental determination of the quality parameters of enzymatic hydrolysates and nutrient media, statistical processing of the obtained results, compilation of available scientific data, preparation of the tables, editing of the paper.

Благодарности. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. The study was not sponsored by any organisation.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this paper.

Литература/References

1. Телишевская ЛЯ. Белковые гидролизаты: получение, состав, применение. М.: Аграр. наука; 2000. [Telishevskaya LYa. Protein hydrolysates: preparation, composition, application. Moscow: Agrar. nauka; 2000 (In Russ.)]
2. Суханова СМ, Захарова НЕ. Питательные среды в практике микробиологических исследований (Гл. 8). В кн.: Лабинская АС, Волина ЕГ, ред. *Руководство по медицинской микробиологии*. Кн. 1. Общая и санитарная микробиология. М.: Бином; 2008. С. 221–54. [Sukhanova SM, Zakharova NE. Nutrient media in microbiological research practice. In: Labinskaya AS, Volina EG, eds. *Guideline on medical microbiology*. Вк. 1. *General and sanitary microbiology*. Moscow: Binom; 2008. P. 221–54 (In Russ.)]
3. Ковтун ЮС, Курилова АА, Таран ТВ, Катунина ЛС, Чурикова НВ. Сравнительная оценка потенциальных белковых основ микробиологических сред. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014;(3):92–5. [Kovtun YuS, Kurilova AA, Taran TV, Katunina LS, Churikova NV. Comparative assessment of prospective protein bases for microbiological media. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2014;(3):92–5 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2014-3-92-95>
4. Калягина СЮ. Создание питательной среды из отходов мясного сырья и оценка ее свойств. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2008;(3):91–3. [Kalyagina SYu. Development of growth medium from meat processing waste products and assessment of its properties. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2008;(3):91–3 (In Russ.)]
5. Филимонова ГВ, Тетерин ВВ, Лещенко АА, Лазыкин АГ, Погорельский ИП, Бирюков ВВ и др. Использование гидролизатов крови крупного рогатого скота, как элементов субстратного питания чумного микроба. *Биозащита и биобезопасность*. 2014;4:50–2. [Filimonova GV, Teterin VV, Leshchenko AA, Lazykin AG, Pogorel'sky IP, Biryukov VV, et al. The use of cattle blood hydrolysates as the elements of substrate nutrition of plague microbe. *Biozashchita i bezopasnost = Biosecurity and Biosafety*. 2014;4:50–2 (In Russ.)]
6. Коваленко ЕА, Тетерин ВВ, Мохов ДА, Филимонова ГВ, Пермяков РГ, Овсянников ЮС и др. Изучение возможности переработки вторичного сырья убоя птицы в гидролизаты микробиологических сред. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2015;(7):17–9. [Kovalenko EA, Teterin VV, Mokhov DA, Filimonova GV, Permyakov RG, Ovsyannikov YuS, et al. Exploring the possibility of recycling secondary materials of poultry slaughtering into hydrolysates of microbiological culture medias. *Khraneniye i pererabotka sel'khozsyrya = Storage and Processing of Farm Products*. 2015;7:17–9 (In Russ.)]
7. Никифоров АК, Антонычева МВ, Волох ОА, Еремин СА, Киреев МН, Жулидов ИМ и др. Разработка питательных сред на основе непищевого сырья для глубинного культивирования штаммов холерного вибриона. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015;1:85–8. [Nikiforov AK, Antonycheva MV, Volokh OA, Eremin SA, Kireev MN, Zhulidov IM, et al. Development of food-raw-material-based nutrient media for submerged cultivation of cholera vibrio strains. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2015;(1):85–8 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2015-1-85-88>
8. Гостищева СЕ, Катунина ЛС, Курилова АА, Абзаева НВ, Ковтун ЮС, Жаринова НВ и др. Применение плотной питательной среды на основе гидролизата кукурузного экстракта сгущенного в производстве вакцины и для хранения вирулентных штаммов чумного микроба. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018;1:75–8. [Gostishcheva SE, Katunina LS, Kurilova AA, Abzaeva NV, Kovtun YuS, Zharinova NV, et al. Usage of solid medium on the basis of corn-steep extract hydrolysate in manufacturing of live plague vaccine and for plague agent preservation. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2018;(1):75–8 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-1-75-78>
9. Курилова АА, Таран ТВ, Катунина ЛС, Головнева СИ. Разработка питательных сред из растительного сырья для культивирования возбудителей особо опасных инфекций. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009;3(101):66–8. [Kurilova AA, Taran TV, Katunina LS, Golovneva SL. Development of nutrient media out of vegetable material for culturing particularly dangerous infections agents. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2009;3(101):66–8 (In Russ.)] [https://doi.org/10.21055/0370-1069-2009-3\(101\)-66-68](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2009-3(101)-66-68)
10. Велямов МТ, Кенжеева ЖК, Кашаганова ЖА. Использование питательной среды из ферментативного гидролизата некондиционных куриных яиц для культивирования производственных штаммов на предприятии. *Международный журнал экспериментального образования*. 2015;(3-1):86–9. [Velyamov MT, Kenzheyeva ZhK, Kashaganova ZhA. The use of a nutrient medium from the enzymatic hydrolysate of substandard chicken eggs for

- the cultivation of production strains at enterprises. *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya = International Journal of Experimental Education*. 2015;3(3-1):86–9 (In Russ.)] <http://expeducation.ru/ru/article/view?id=6707>
11. Овсянников ЮС, Коваленко ЕА, Филимонова ГВ, Лещенко АА, Погорельский ИП, Лазыкин АГ и др. Использование гидролизатов отработанных куриных эмбрионов как основы микробиологических сред. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2015;(11):45–8. [Ovsyannikov YuS, Kovalenko EA, Filimonova GV, Leshchenko AA, Pogorel'sky IP, Lazykin AG, et al. The use of hydrolyzates of waste chicken embryos as the basis for microbiological media. *Khraneniye i pererabotka sel'khozsyry'a = Storage and Processing of Farm Products*. 2015;(11):45–8 (In Russ.)]
 12. Овсянников ЮС, Филимонова ГВ, Коваленко ЕА, Лещенко АА, Погорельский ИП, Лазыкин АГ. Перспективы использования отработанных куриных эмбрионов для получения микробиологических питательных сред. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2016;(5):37–41. [Ovsyannikov YuS, Filimonova GV, Kovalenko EA, Leshchenko AA, Pogorel'sky IP, Lazykin AG. Perspectives of using of waste chicken embryos for microbiological nutrient media. *Khraneniye i pererabotka sel'khozsyry'a = Storage and Processing of Farm Products*. 2016;(5):37–41 (In Russ.)]
 13. Поляк МС, Сухаревич ВИ, Сухаревич МЭ. *Питательные среды для медицинской микробиологии*. СПб.: НИЦФ; 2003. [Polyak MS, Sukharevich VI, Sukharevich ME. *Nutrient media for medical microbiology*. St. Petersburg: RCPH; 2003 (In Russ.)]
 14. Шепелин АП, Дятлов ИА. *Питательные среды для энтеробактерий*. М.: Династия; 2017. [Shepelin AP, Dyatlov IA. *Nutrient media for enterobacteria*. Moscow: Dinastia; 2017 (In Russ.)]
 15. Ковтун ЮС, Курилова АА, Катунина ЛС, Василенко ЕИ. Сравнительная оценка белковых гидролизатов при разработке на их основе питательной среды для культивирования бруцелл. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016;(4):93–7. [Kovtun YuS, Kurilova AA, Katunina LS, Vasilenko EI. Comparative evaluation of protein hydrolyzates in the process of constructing based on them nutrient medium for brucella cultivating. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016;(4):93–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-4-93-97>
 16. Максимюк НН, Марьяновская ЮВ. О преимуществах ферментативного способа получения белковых гидролизатов. *Фундаментальные исследования*. 2009;(1):34–5. [Maksimyuk NN, Mar'yanovskaya YuV. About the advantages of the enzymatic method for obtaining protein hydrolyzates. *Fundamenta'nyye issledovaniya = Fundamental Research*. 2009;(1):34–5 (In Russ.)]
 17. Зедгинидзе ИГ. *Планирование эксперимента для исследования многокомпонентных систем*. М.: Наука; 1976. [Zedginidze IG. *Planning an experiment for the study of multicomponent systems*. Moscow: Nauka; 1976 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Овсянников Юрий Степанович, канд. биол. наук, доцент. *Yuriy S. Ovsyannikov*, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor. **SPIN-код РИНЦ**: 4919-1621

Дурсенев Максим Сергеевич, канд. биол. наук, доцент. *Maksim S. Dursenev*, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor. **ORCID**: <https://orcid.org/0000-0002-8205-5042>

Поступила 01.06.2021

После доработки 02.08.2021

Принята к публикации 03.09.2021

Received 1 June 2021

Revised 2 August 2021

Accepted 3 September 2021