

АДАПТАЦИЯ *PSEUDOMONAS HELMANTICENSIS* К ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТУ НАТРИЯ В ПРИСУТСТВИИ ГЛИЦЕРИНА

И.Н. Зубков, *zub-i@bk.ru*
В.Д. Кондратьев, *kondratyev_vadim@mail.ru*
С.М. Шишлянников, *sershilin@gmail.com*

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал
«Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН,
Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Культура *Pseudomonas helmanticensis*, устойчивая к действию додецилсульфата натрия (SDS), способна продуцировать полигидроксиалканоаты (ПГА) – биогенные полиэфиры, применяемые при производстве упаковочных материалов. Устойчивость к алкилсульфатам открывает возможность использования *P. helmanticensis* для разработки неаксе-ничных (т. е. не предполагающих предварительной стерилизации сред) процессов получения ПГА. Добавление SDS в среды для культивирования подавляет рост посторонних микроорганизмов, что позволяет избежать паровой стерилизации и снизить стоимость готового полимера. Одним из наиболее перспективных субстратов для получения ПГА является глицерин. Следовательно, целесообразно изучить адаптацию *P. helmanticensis* к SDS в средах, содержащих глицерин в качестве основного субстрата. Известно, что бактерии *Pseudomonas* обладают несколькими механизмами, обеспечивающими устойчивость к SDS: образование агрегатов, окруженных защитным матриксом, модификация мембран и синтез расщепляющих алкилсульфаты ферментов. Наличие агрегатов в культурах *P. helmanticensis* изучалось с помощью эпифлуоресцентной микроскопии с предварительным окрашиванием клеток Акридиновым оранжевым. Модификация клеточных мембран исследовалась путем анализа жирнокислотного состава биомассы методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии. Наличие внутриклеточных сульфатаз оценивалось по изменению концентрации SDS в ходе культивирования. Показано, что *P. helmanticensis* адаптируется к присутствию SDS в средах, содержащих глицерин, путем активации всех трех указанных механизмов. Максимальная концентрация SDS, при которой *P. helmanticensis* демонстрирует значительный рост биомассы, составляет 0,5 г/л. Такая концентрация ингибирует рост многих других микроорганизмов, благодаря чему *P. helmanticensis* является перспективным продуцентом для получения ПГА в нестерильных средах, содержащих глицерин и SDS.

Ключевые слова: *Pseudomonas helmanticensis*, додецилсульфат натрия, агрегаты, мембранные липиды, жирнокислотный состав, полигидроксиалканоаты, глицерин, эпифлуоресцентная микроскопия, газовая хроматография – масс-спектрометрия, устойчивость к детергентам

Для цитирования: Зубков И.Н., Кондратьев В.Д., Шишлянников С.М. Адаптация *Pseudomonas helmanticensis* к додецилсульфату натрия в присутствии глицерина // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2022. Т. 10, № 2. С. 43–49. DOI: 10.14529/food220205

Original article
DOI: 10.14529/food220205

ADAPTATION OF *PSEUDOMONAS HELMANTICENSIS* TO SODIUM DODECYL SULFATE IN THE PRESENCE OF GLYCEROL

I.N. Zubkov, zub-i@bk.ru

V.D. Kondratyev, kondratyev_vadim@mail.ru

S.M. Shishlyannikov, sershilin@gmail.com

All-Russian Research Institute for Food Additives, branch of V.M. Gorbатов
Federal Research Center for Food Systems (RAS), St. Petersburg, Russia

Abstract. Resistant to sodium dodecyl sulfate (SDS) *Pseudomonas helmanticensis* can produce polyhydroxyalkanoates (PHA) – biogenic polyesters that may replace synthetic wrapping materials. The resistance to alkyl sulfates allows to use *P. helmanticensis* for the development of non-axenic PHA production processes. The addition of SDS to culture media inhibits the growth of unwanted microorganisms. It allows to omit a vapor sterilization step and reduce the cost of the final polymer. Glycerol is a promising substrate for PHA production. Therefore, it is reasonable to study the adaptation of *P. helmanticensis* to SDS in the media containing glycerol. It is known that *Pseudomonas* bacteria have several mechanisms that provide resistance to SDS: the aggregate formation, membrane modification, and the synthesis of the enzymes that cleave alkyl sulfates. The presence of aggregates in *P. helmanticensis* cultures was studied using epifluorescence microscopy. The cells were stained with Acridine orange before microscopy. Modification of the cell membranes was studied by analyzing the fatty acid composition of biomass by gas chromatography – mass spectrometry. The presence of intracellular sulfatases was assessed by the change in SDS concentration. It has been shown that *P. helmanticensis* adapts to the presence of SDS in media containing glycerol by activation of all three mechanisms. The highest concentration of SDS at which *P. helmanticensis* shows a significant biomass growth is 0.5 g/L. This concentration inhibits the growth of many other microorganisms. *P. helmanticensis* is a promising producer for the synthesis of PHA in non-sterile media containing glycerol and SDS.

Keywords: *Pseudomonas helmanticensis*, sodium dodecyl sulfate, aggregate, membrane lipids, fatty acid composition, polyhydroxyalkanoates, glycerol, epifluorescence microscopy, gas chromatography-mass spectrometry, detergent resistance

For citation: Zubkov I.N., Kondratyev V.D., Shishlyannikov S.M. Adaptation of *Pseudomonas helmanticensis* to sodium dodecyl sulfate in the presence of glycerol. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2022, vol. 10, no. 2, pp. 43–49. (In Russ.) DOI: 10.14529/food220205

Введение

Бактерии *Pseudomonas* продуцируют многие ценные вещества, в частности, полигидроксиалканоаты (ПГА) – биоразлагаемые пластики, которые могут стать заменой традиционным полимерам, получаемым путем нефтехимического синтеза [1]. Основным недостатком ПГА, ограничивающим их широкое использование, является высокая стоимость их производства. Немалая часть всех затрат при получении ПГА обусловлена использованием паровой стерилизации сред, при которой расходуется большое количество энергии. Отказ от стерилизации позволил бы значительно снизить стоимость готового полимера. Неко-

торые бактерии *Pseudomonas*, продуцирующие ПГА, обладают устойчивостью к высоким (до 5 г/л) концентрациям додецилсульфата натрия (SDS) – сильного ионного детергента, подавляющего рост большинства известных микроорганизмов [2]. Такие бактерии могут стать базой для разработки промышленных процессов синтеза ПГА, в которых культивирование проводится в присутствии SDS. Благодаря наличию в среде сильного детергента ингибируется рост посторонних микроорганизмов, но не продуцента ПГА, обладающего устойчивостью к SDS. Таким образом, использование SDS-содержащих сред позволяет отказаться от паровой стерилиза-

ции. Одним из примеров устойчивых к SDS продуцентов ПГА является *Pseudomonas helmanticensis* [2, 3].

Присутствие SDS в среде для культивирования вызывает у бактерий *Pseudomonas* значительный стресс [4]. Ответом на этот стресс служит активация трех различных механизмов. В частности, запускается процесс образования окруженных защитным матриксом агрегатов [3, 5, 6]. Кроме того, происходит снижение текучести мембранных липидов [3, 7]. Текучесть, оцениваемая как отношение содержания ненасыщенных и насыщенных жирных кислот (ЖК), напрямую связана с проницаемостью билипидного слоя. Понижая текучесть (увеличивая долю насыщенных ЖК), клетка замедляет диффузию SDS в цитозоль [8]. Для расщепления поступающего из среды додецилсульфата бактерии *Pseudomonas* продуцируют ряд эндогенных сульфатаз [9, 10]. Для изучения механизмов устойчивости к алкилсульфатам применяют различные методы. Образование агрегатов можно наблюдать с помощью флуоресцентной микроскопии с предварительным окрашиванием культур универсальным красителем (например, Акридиновым оранжевым) [3]. Для изучения жирнокислотного состава липидов используют метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии [11]. Активность эндогенных сульфатаз можно оценить по убыли концентрации SDS в среде в ходе культивирования.

Известно, что присутствие ряда легко расщепляемых субстратов (например, углеводов) ингибирует экспрессию сульфатаз, подавляя устойчивость бактерий *Pseudomonas* к SDS [12, 13]. Следовательно, использование сред сложного состава, содержащих помимо SDS какой-либо еще субстрат, сопряжено с рядом трудностей. Перед созданием неаксеничных процессов синтеза ПГА необходимо исследовать устойчивость продуцента к SDS в присутствии основного субстрата. Для получения ПГА часто используется глицерин, который образуется в процессе производства биотоплива [14]. Исследований влияния глицерина на устойчивость бактерий *Pseudomonas* к SDS не проводилось. Это побудило авторов статьи изучить влияние глицерина на различные механизмы устойчивости к SDS культуры *P. helmanticensis* – потенциального продуцента ПГА [2].

Объекты и методы исследований

Объект исследований

Объектом исследований служила культура *P. helmanticensis*, выделенная из образца загрязненной почвы в Ленинградской области [3]. Культура хранится во ВНИИПД – Филиале «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН.

Влияние концентрации SDS на накопление биомассы при культивировании на среде, содержащей глицерин

Для определения максимальной концентрации SDS, при которой происходит накопление значительного количества биомассы, была поставлена серия экспериментов с варьированием содержания детергента в среде от 0,05 г/л до 5 г/л. Культивирование проводили в колбах Эрленмейера объемом 750 мл на шейкере-инкубаторе при температуре 28 °С и скорости перемешивания 250 об/мин. Помимо SDS, среды содержали 10 г/л глицерина, 0,5 г/л NH_4Cl , 0,5 г/л $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3 г/л $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 2 г/л $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и 0,01 г/л MgSO_4 . После завершения культивирования (96 ч) массу клеток отделяли центрифугированием (10 мин при $6800 \times g$), высушивали и взвешивали.

Культивирование *P. helmanticensis* для анализа устойчивости к SDS

Для изучения устойчивости к SDS *P. helmanticensis* культивировали на среде, содержащей 0,5 г/л SDS, 10 г/л глицерина, 0,5 г/л NH_4Cl , 0,5 г/л $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3 г/л $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 2 г/л $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и 0,01 г/л MgSO_4 . Культивирование на аналогичной среде, не содержащей SDS, использовалось в качестве контроля. Образцы биомассы для анализа морфологии культур и жирнокислотного состава липидов отбирали после 96 ч культивирования. Степень деградации SDS анализировали также по окончании культивирования (по прошествии 96 ч).

Изучение морфологии культур методом эпифлуоресцентной микроскопии

Культуры клеток подвергали окрашиванию Акридиновым оранжевым по стандартному методу [3]. Для этого образцы культур наносили на предметное стекло и высушивали на воздухе. Затем стекло с клетками помещали в 0,001 % водный раствор красителя на 2 мин. После этого образец на 15 с последовательно помещали в дистиллированную воду, 50; 70 и 90 % раствор этанола в воде, на 15 с в чистый этанол и на 30 с в лимонен. Покров-

ное стекло приклеивали с помощью Витрогеля, и образец нагревали до 42 °С в течение 10 мин. Готовый образец исследовали при длине волны возбуждения 500 нм на микроскопе Leica DM 1000 LED («Leica», Германия).

*Изучение жирнокислотного состава клеток *P. helmanticensis**

Анализ жирнокислотного состава проводили по стандартной методике [3]. К 70 мг биомассы добавляли 800 мкл смеси Фолча (хлороформ/метанол 2:1 по объему) и проводили экстракцию липидов в течение 12 ч при 4 °С. После этого смесь центрифугировали (10 мин при 6800 × g), органическую фазу отбирали и упаривали в токе азота при комнатной температуре. К сухому остатку добавляли 200 мкл метилирующей смеси – 2 % раствора серной кислоты в метаноле. Образцы нагревали до 65 °С в течение двух часов. По окончании реакции к смеси добавляли 200 мкл 4 % водного раствора карбоната натрия и проводили экстракцию 1 мл дихлорметана. Полученный экстракт анализировали методом ГХ/МС на хроматографе Varian 450-GC, снабженном масс-спектрометрическим детектором Varian 240-MS (колонка WCOT fused silica 50 m × 0.25 mm ID Coating CP-Wax 58 (FFAP-CB Df = 0.2)) («Varian», США). Объем вводимого в колонку образца составлял 1 мкл, газ-носитель – гелий, скорость потока 1 мл/мин. Хроматографическое разделение начинали при постоянной температуре (3 мин, 50 °С), затем температуру колонки линейно повышали до 250 °С в течение 20 минут. Завершали разделение при постоянной температуре (250 °С) в течение 40 минут. Отнесение сигналов производили путем сравнения их времен удерживания с хроматограммой стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот. Подтверждали отнесение с помощью сравнения масс-спектров отдельных компонентов смеси с базой данных. Каждый образец анализировали три раза. Доверительные интервалы результатов анализа рассчитывали с помощью критерия Стьюдента.

Анализ содержания SDS

Анализ содержания SDS в культуральной жидкости проводили спектрофотометрическим методом в соответствии с [15]. Для этого культуру клеток центрифугировали (6800 × g, 10 мин), а супернатант отделяли. 1 мл исследуемого раствора смешивали с 500 мкл раствора Метиленового синего (50 мг/л) в фосфатном буфере (0,0007 моль/л, pH = 7,2) и

3 мл хлороформа. Проводили экстракцию в течение 3 мин, органический слой отделяли и измеряли его оптическую плотность при 655 нм (кювета толщиной 1 см) на фоне холостого раствора. Определение осуществляли с помощью градуировочного графика.

Результаты и их обсуждение

Влияние концентрации SDS на накопление биомассы при культивировании на среде, содержащей глицерин

Зависимость выхода биомассы от начальной концентрации SDS при культивировании *P. helmanticensis* на средах, содержащих глицерин, представлена на рис. 1. Заметный рост биомассы (3,2 г/л) наблюдается при концентрации SDS 0,5 г/л и менее. В присутствии глюкозы сопоставимые количества биомассы *P. helmanticensis* образуются только при концентрации SDS не более 50 мг/л [3]. Таким образом, устойчивость *P. helmanticensis* при наличии глицерина в среде для культивирования в 10 раз выше, чем в случае глюкозы. По всей видимости, эта разница обусловлена подавлением экспрессии сульфатаз: в присутствии глюкозы это ингибирование на порядок сильнее, чем в случае глицерина. Анализ культуральной жидкости на наличие SDS также подтверждает предположение об эффективной экспрессии сульфатаз в присутствии глицерина: в конце культивирования содержание SDS в среде было ниже предела чувствительности используемого метода. Можно сделать вывод, что один из основных механизмов устойчивости к алкилсульфатам – выработка расщепляющих SDS ферментов – не подавляется глицерином.

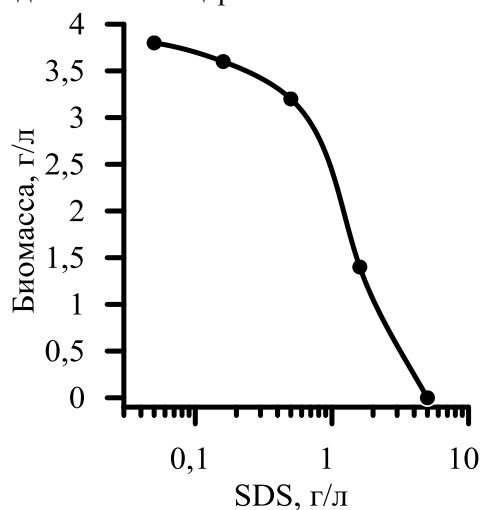


Рис. 1. Зависимость выхода биомассы *P. helmanticensis* от начальной концентрации SDS. Основной источник углерода – глицерин (10 г/л)

Образование агрегатов

При культивировании в присутствии SDS *P. helmanticensis* образует клеточные агрегаты (рис. 2 А). Напротив, клетки *P. helmanticensis* в контрольном образце, не содержащем SDS, находились в планктонной форме (рис. 2 Б). Таким образом, важнейший механизм устойчивости к SDS – образование окруженных защитным матриксом агрегатов – активируется независимо от наличия глицерина в среде.

Влияние SDS на жирнокислотный состав *P. helmanticensis*

Содержание насыщенных ЖК (С[14: 0] и С[16: 0]) значительно выше в образцах клеток, полученных культивированием в присутствии SDS (см. таблицу). Текучесть мембранных липидов, определяемая соотношением между ненасыщенными и насыщенными

ми жирными кислотами, в 2,5 раза выше, если в среде для культивирования отсутствует детергент. Наличие SDS активирует периплазматические гидрогеназы ЖК [16]. В результате возрастает доля липидов, содержащих насыщенные ЖК, и имеющих меньшую текучесть, а значит и проницаемость. Таким образом клетка замедляет диффузию детергента в цитозоль, снижая его токсическое действие [3].

Выводы

ПГА-продуцирующая культура *P. helmanticensis* способна адаптироваться к средам, содержащим до 0,5 г/л додецилсульфата натрия в присутствии глицерина. Показано, что адаптация обеспечивается активацией трех защитных механизмов: образование окруженных матриксом агрегатов, модификация мем-

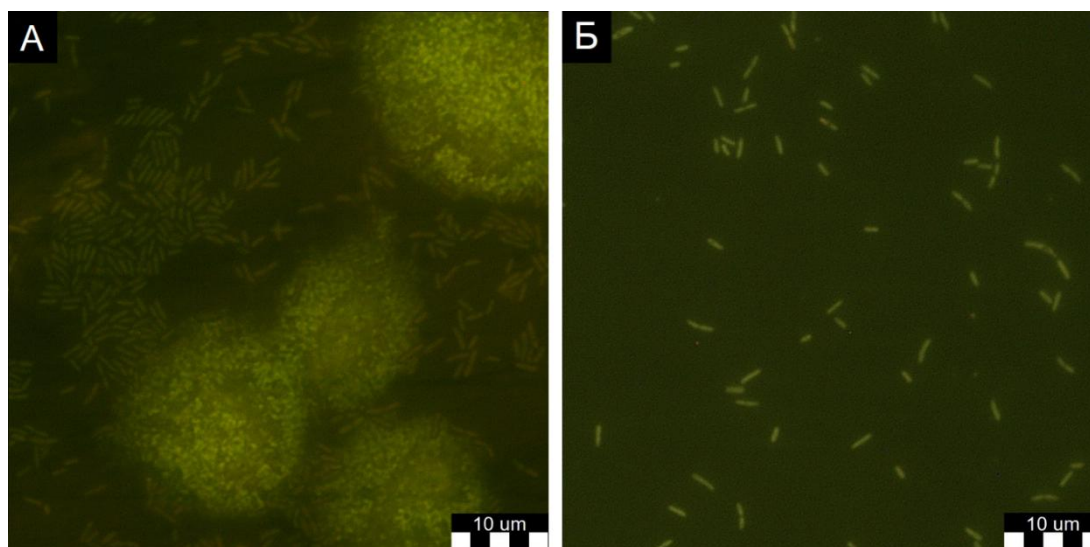


Рис. 2. Культуры клеток *P. helmanticensis*, выращенные в присутствии SDS (А) и на чистом глицерине (Б)

Результаты анализа жирнокислотного состава биомассы *P. helmanticensis*

Среда	10 г/л глицерин	10 г/л глицерин + 0,5 г/л SDS
С[14: 0] (0,2)	1,2	3,9
С[16: 0] (0,3)	35,1	55,1
цис-9-С[16: 1] (0,2)	31,9	18,7
цис-10-С[17: 1] (0,1)	3,4	4,0
цис-9-С[18: 1] (0,2)	28,4	18,3
Ненасыщ/насыщ (0,02)	1,75	0,69

Примечание: Доверительные интервалы результатов анализа ($p < 0,05$), вычисленные с помощью критерия Стьюдента, приведены в скобках.

бранных липидов и синтез ферментов, расщепляющих алкилсульфаты. Относительно высокая предельная концентрация додецилсуль-

фата (0,5 г/л) позволяет использовать *P. helmanticensis* для создания процессов биоконверсии глицерина в ПГА без предварительной стерилизации сред.

Список литературы/References

1. Volova T.G., Boyandin A.N., Prudnikova S.V. Biodegradation of polyhydroxyalkanoates in natural soils. *J. Sib. Fed. Univ. Biol.*, 2015, vol. 8, no. 2, pp. 152–167. DOI: 10.17516/1997-1389-2015-8-2-152-167
2. Nepomnyashchiy A.P., Shishlyannikov S.M., Shpironok O.G., Alekseeva A.A., Zubkov I.N., Sitnov V.Yu. Soil SDS-degrading bacterium *Pseudomonas helmanticensis* as a potential producer of polyhydroxyalkanoates. *Proc. 19th Int. Sci. Prac. Conf. "Current trends of agricultural industry in global economy"*. Kemerovo, 2021, pp. 182–189. DOI: 10.32743/agri.gl.econ.2020.182-189
3. Zubkov I.N., Nepomnyshchiy A.P., Kondratyev V.D., Sorokoumov P.N., Sivak K.V., Ramsay E.S., Shishlyannikov S.M. Adaptation of *Pseudomonas helmanticensis* to fat hydrolysates and SDS: fatty acid response and aggregate formation. *J. Microbiol.*, 2021, vol. 59, no 11, pp. 1104–1111. DOI: 10.1007/s12275-021-1214-5
4. Klebensberger J., Rui O., Fritz E., Schink B., Philipp B. Cell aggregation of *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1 as an energy-dependent stress response during growth with sodium dodecyl sulfate. *Arch. Microbiol.*, 2006, vol. 185, no. 6, pp. 417–427. DOI: 10.1007/s00203-006-0111-y
5. Klebensberger J., Birkenmaier A., Geffers R., Kjelleberg S., Philipp B. SiaA and SiaD are essential for inducing autoaggregation as a specific response to detergent stress in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ. Microbiol.*, 2009, vol. 11, no. 12, pp. 3073–3086. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02012.x
6. Flemming H.-C., Wingender J. The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2010, vol. 8, pp. 623–633.
7. Nyberg H. The influence of ionic detergents on the phospholipid fatty acid compositions of *Porphyridium purpureum*. *Phytochemistry*, 1985, vol. 24, no. 3, pp. 435–440. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)80742-6
8. Зубков И.Н., Шишляников С.М. Толерантность бактерий *Pseudomonas* к додецилсульфату натрия // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2022. Т. 10, № 1. С. 5–14. [Zubkov I.N., Shishlyannikov S.M. Tolerance of *Pseudomonas* bacteria to sodium dodecyl sulfate. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2022, vol. 10, no. 1, pp. 5–14. (In Russ.)] DOI: 10.14529/food220101
9. Boltes I., Czapinska H., Kahnert A., von Bulow R., Dierks T., Schmidt B., von Figura K., Kertesz M.A., Uson I. 1.3 A structure of arylsulfatase from *Pseudomonas aeruginosa* establishes the catalytic mechanism of sulfate ester cleavage in the sulfatase family. *Structure*, 2001, vol. 9, no. 6, pp. 483–491. DOI: 10.1016/s0969-2126(01)00609-8
10. Muller I., Kahnert A., Pape T., Sheldrick G.M., Meyer-Klaucke W., Dierks T., Kertesz M., Uson I. Crystal structure of the alkylsulfatase AtsK: Insights into the catalytic mechanism of the Fe(II) α -ketoglutarate-dependent dioxygenase superfamily. *Biochemistry*, 2004, vol. 43, no. 11, pp. 3075–3088. DOI: 10.1021/bi035752v
11. Guerin-Mechin L., Dubois-Brissonnet F., Heyd B., Leveau J.Y. Quaternary ammonium compound stresses induce specific variations in fatty acid composition of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, vol. 55, no. 1-3, pp. 157–159. DOI: 10.1016/S0168-1605(00)00189-6
12. Fitzgerald J.W., Kight L.C. Physiological control of alkylsulfatase synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: effects of glucose, glucose analogs, and sulfur. *Can. J. Microbiol.*, 1977, vol. 23, pp. 1456–1464. DOI: 10.1139/m77-214
13. Collier D.N., Hager P.W., Phibbs Jr. P.V. Catabolite repression control in the *Pseudomonads*. *Res. Microbiol.*, 1996, vol. 147, no. 6-7, pp. 551–561. DOI: 10.1016/0923-2508(96)84011-3

14. Poblete-Castro I., Wittmann C., Nikel P.I. Biochemistry, genetics and biotechnology of glycerol utilization in *Pseudomonas* species. *Microb. Biotechnol.*, 2019, vol. 13, no. 1, pp. 32–53. DOI: 10.1111/1751-7915.13400
15. Hayashi, K. A rapid determination of sodium dodecyl sulfate with methylene blue. *Anal. Biochem.*, 1975, vol. 67, pp. 503–506. DOI: 10.1016/0003-2697(75)90324-3
16. Shanklin J., Whittle E. Evidence linking the *Pseudomonas oleovorans* alkane ω -hydroxylase, an integral membrane diiron enzyme, and the fatty acid desaturase family. *FEBS Lett.*, 2003, vol. 545, no. 2-3, pp. 188–192. DOI: 10.1016/s0014-5793(03)00529-5

Информация об авторах

Зубков Илья Николаевич, аспирант, младший научный сотрудник, лаборатория промышленной биотехнологии и микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Санкт-Петербург, Россия, zub-i@bk.ru

Кондратьев Вадим Дмитриевич, младший научный сотрудник, лаборатория промышленной биотехнологии и микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Санкт-Петербург, Россия, kondratyev_vadim@mail.ru

Шишлянников Сергей Михайлович, старший научный сотрудник, лаборатория промышленной биотехнологии и микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Санкт-Петербург, Россия, sershilin@gmail.com

Information about the authors

Ilya N. Zubkov, postgraduate student, junior researcher, laboratory of industrial biotechnology and microbiology, All-Russian Research Institute for Food Additives, branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems (RAS), Saint-Petersburg, Russia, zub-i@bk.ru

Vadim D. Kondratyev, junior researcher, laboratory of industrial biotechnology and microbiology, All-Russian Research Institute for Food Additives, branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems (RAS), Saint-Petersburg, Russia, kondratyev_vadim@mail.ru

Sergey M. Shishlyannikov, senior researcher, laboratory of industrial biotechnology and microbiology, All-Russian Research Institute for Food Additives, branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems (RAS), Saint-Petersburg, Russia, sershilin@gmail.com

Статья поступила в редакцию 14.02.2022

The article was submitted 14.02.2022