

Исследование Влияния Ультразвука на Каллусогенез, Содержание Липидной Фракции, Лецитина, на Активность Липаз в Экстрактах из Нативной Сои Сорта «Алтом» и в Культуре Клеток и Тканей In Vitro

Ю А. Кошелев, д.фарм.н, М Э. Ламберова, к.х.н.,
А А. Ламберова

Бийский Технологический Институт (филиал)
ГОУ ВПО «Алтайский Государственный Технический Университет имени И. И. Ползунова»

Аннотация – Для сои сорта «Алтом» при введении в культуру клеток и тканей эксплантов из зародышевых листочков бобов и дальнейшем ее размножении было показано, что максимальная эффективность стерилизации и последующего каллусообразования наблюдались при двух вариантах обработки эксплантов: УЗ без химической обработки, либо 70 %-ным этанолом без УЗ. Прирост биомассы полученного соевого каллуса при действии УЗ также был выше на 50 %.

Оптимальные режимы УЗ-обработки были предварительно отработаны на экстрактах из тех частей растения, которые затем использовали в качестве эксплантов, чтобы не разрушить ценные вещества сои. Затем в экстрактах из биомассы определяли содержание тех же биологически активных веществ, что и в экстрактах из нативной сои, чтобы проверить ее биосинтетические способности, а не только скорость прироста.

Ключевые слова - Ultrasonic sterilization, extraction, lecithin, lipid fraction, plant cell and tissue culture in vitro, каллусогенез, липидная фракция, лецитин, липаза, ультразвуковая стимуляция, экстракция, стерилизация эксплантов, ультразвуковая обработка.

ВВЕДЕНИЕ

В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ актуальным является интенсификация методов улучшения свойств сортов сои и экстракции из нее масел и других ценных компонентов.

К ценным компонентам соевого масла относятся лецитин, на основе которого создаются биологически активные добавки к пище и кормам. Лецитин является фосфатидилхолином, присутствует в большинстве клеточных мембран и входит в состав мозговой ткани человека и

животных. В растениях он встречается в соевых бобах, семенах подсолнечника, зародышах пшеницы и участвует в липидном обмене.

В число ценных ферментов липидного обмена входит липаза, которая гидролизует эфирные связи в триглицеридах жировой фракции, в результате чего освобождаются незаменимые жирные кислоты, важные в пище и кормах.

Алтайский край не считается традиционным для выращивания сои. Метод культуры клеток и тканей in vitro позволяет улучшить свойства районированных сортов сои, размножить посадочный материал, освобожденный от всех видов инфекции, независимо от времени года, природно-климатических условий, не занимая больших посевных площадей.

Проблемой является то, что исходные экспланты чувствительны к химическим методами стерилизации: к длительности обработки и выбранным реактивам.

Из литературы известно, что к методам интенсификации экстракции и стерилизации относится ультразвуковая обработка. В зависимости от объекта и цели применения ультразвука нужно подбирать режимы обработки.

Ценные компоненты липидной фракции могут при этом разрушаться непосредственно от действия ультразвука, а также за счет изменения активности липазы в экстрактах из обрабатываемого сырья. Поэтому необходимо было подобрать режимы стерилизации эксплантов, вводимых в культуру клеток и тканей in vitro с помощью ультразвука, не нарушив в них ценных свойств исходного растения. Оптимальные параметры УЗ-обработки подбирали на экстрактах из

тех частей растения, которые затем использовали в качестве эксплантов.

Для оценки влияния ультразвука на рост клеток, определяли эффективность каллусообразования и прироста биомассы с ультразвуком и без него. Затем в экстрактах из биомассы определяли содержание тех же биологически активных веществ, что и в экстрактах из нативной сои.

II. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Целью данной комплексной работы было исследование влияния ультразвука на каллусогенез, содержание липидной фракции, лецитина, на активность липаз в экстрактах из нативной сои сорта «Алтом» и в культуре клеток и тканей *in vitro*.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- ввести в культуру клеток и тканей экспланты сои в виде зародышевых листков и апикальных меристем;
- определить влияние ультразвука на эффективность стерилизации (при химической и ультразвуковой обработке эксплантов), каллусообразования и прирост биомассы каллуса сои;
- исследовать зависимость содержания суммарных липидов в экстрактах из соевых бобов и каллуса сои от мощности и длительности ультразвукового воздействия;
- изучить влияние ультразвука на активность липазы в водных экстрактах из соевых бобов и каллуса сои в гидролизе растительных жиров;
- исследовать влияние экстрагента и ультразвуковой обработки на выделение лецитина из соевых бобов и каллуса сои;
- определить жирнокислотный состав липидной фракции в экстрактах из соевых бобов и каллуса сои от мощности и длительности обработки ультразвуком.

III. ТЕОРИЯ

1. Отбор и подготовка эксплантов

В качестве эксплантов брали зародышевые листочки боба. Отбирали средние по размеру неповрежденные зёрна сои и подвергали предварительной стерилизации, замачивая их в воде. Проросшие в воде жизнеспособные бобы надрезали и извлекали зародышевый листок. Затем выбранные экспланты подвергали основной стерилизации.

В процессе предварительной стерилизации соевые бобы помещали в 5 %-ный раствор $KMnO_4$ на 20 минут, затем промывали водопроводной водой.

В ходе основной стерилизации эксплант в одном варианте помещали в 70 %-ный водный рас-

твор этанола на 0,5 - 1,5 минут, промывали стерильной дистиллированной водой в течение 0,5 - 1,5 минут. Во втором варианте эксплант подвергали только ультразвуковой обработке.

Для накопления биомассы использовали первичные экспланты в виде зародышевых листков сои сорта «Алтом», которые подвергали химической и ультразвуковой стерилизации. Эффективность стерилизации (Ξ) оценивали по количеству неинфицированных эксплантов в пробирках после стерилизации (c), выражая в процентах от исходного количества стерилизуемых эксплантов (x):

$$\Xi = \frac{c}{x} \times 100\% , \quad (1)$$

Стерильные экспланты помещали в пробирки на поверхность модифицированной агаризованной среды Мурасиге-Скуга (МС) [5].

2. Инициация каллусообразования при введении эксплантов в культуру клеток и тканей *in vitro* и оценка прироста биомассы каллуса сои

На следующей стадии инициации каллусообразования отобранные и стерилизованные экспланты помещали на среду МС с добавлением 2,4 – дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4 – Д). Пробирки помещали в термостат с температурой $(26 \pm 1)^\circ C$, с относительной влажностью воздуха 70 % и инкубировали в темноте. В таких условиях инициацию каллусообразования проводили в течение 14 суток. Затем каллус пересаживали на питательную среду МС с добавлением α – нафтилуксусной кислоты (α – НУК) для пассирования в течение 14 дней. Экспланты, обработанные ультразвуком на стадии стерилизации, ежедневно обрабатывали затем на всех последующих стадиях, то есть при инициации каллусообразования и размножении каллуса. Эффективность каллусообразования (Ξ) определяли по количеству стерильных эксплантов, образовавших каллус в пробирках с питательной средой (k), выражая в процентах, от исходного количества вводимых в культуру эксплантов (x):

$$\Xi = \frac{k}{x} \times 100\% , \quad (2)$$

Режим обработки ультразвуком был предварительно отработан в экстрактах из нативной сои по содержанию общего белка в них [7].

Начальную массу каллуса в каждой пробирке определяли по разнице веса пробирки до и после посева в них культуры клеток. По окончании культивирования аналогично определяли конечную массу каллуса. Прирост биомассы выражали в граммах и процентах.

Для эксперимента было взято по 40 пробирок со средой МС, модифицированной гормонами, соответствующими цели данной стадии культивирования.

3. *Исследование зависимости содержания суммарных липидов в экстрактах из соевых бобов и каллуса сои от мощности и длительности ультразвукового воздействия*

Суммарное содержание липидов, выделенных в экстракт, определяли методом длительного настаивания навесок нативных и каллусных тканей в хлороформ-этанольной смеси. По разности масс образца до и после экстракции находили процентное содержание липидов в экстракте [6].

4. *Исследование влияния ультразвука на активность липазы в водных экстрактах из соевых бобов и каллуса сои в процессе гидролиза растительных жиров*

Об активности липазы судили по количеству жирных кислот, образовавшихся за определенный промежуток времени в результате ферментативного гидролиза жира. Количество жирных кислот определяли титрованием 0,1 н раствором щелочи отдельных проб масла, взятых до гидролиза и в процессе гидролиза [6].

5. *Изучение методом ГЖХ зависимости жирнокислотного состава липидной фракции в экстрактах из соевых бобов и каллуса сои от мощности и длительности обработки ультразвуком*

Подлинность в препарате определяли методом газовой хроматографии в соответствии с ГФ XI, вып.1, с. 109.

Для этого 0,03 – 0,04 мл препарата смешивали с 1 мл метанола, 1 мл ацетил хлорида и нагревали с обратным холодильником на водяной бане в течение 1,5 ч. Избыток спирта отгоняли. В реакционную смесь прибавляли 1 мл гексана и перемешивали. Отбирали по 10 мкл смеси с помощью микрошприца и вводили попеременно с модельной смесью в испаритель газового хроматографа с пламенно – ионизационным детектором и снимали не менее двух хроматограмм.

Спиртово – хлороформные фракции, полученные в опыте 2, выпаривали на водяной бане для удаления растворителя.

6. *Исследование влияния экстрагента и ультразвуковой обработки на выделение лецитина в экстрактах из соевых бобов и каллуса сои*

Метод описан в нашей статье ранее [6].

IV. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. *Исследование влияния ультразвука на стерилизацию эксплантов, каллусообразование и прирост каллусной биомассы*

Во всех опытах использовали ультразвуковой технологический аппарат «Волна»-0,4/22-М. Для опыта с применением ультразвука и для контрольного опыта без него было взято по 40 пробирок с питательной средой МС и эксплантами. В качестве эксплантов были взяты зародышевые листки и части листьев нативного растения сои сорта «Алтом».

Основную стерилизацию эксплантов проводили в стерильных условиях в ламинар-боксе. В качестве стерилизующих факторов использовали 70 %-ный раствор этилового спирта и ультразвук. Применяли разные варианты стерилизации:

1) однократная ультразвуковая обработка среды (мощность 20 Вт в течение 5 мин) перед посевом эксплантов, не обработанных ультразвуком;

2) ультразвуковая обработка бобов (мощность 20 Вт в течение 1 мин) с химической обработкой 70 %-ным этанолом в ламинар-боксе;

3) ультразвуковая обработка бобов (мощность 20 Вт в течение 1 мин) с химической обработкой 70 %-ным этанолом в ламинар-боксе; после посева экспланты однократно обрабатывали ультразвуком (мощность 20 Вт в течение 1 мин);

4) химическая обработка эксплантов 70 %-ным этанолом в ламинар-боксе; ультразвуковая обработка (мощность 20 Вт в течение 1 мин) эксплантов и среды ежедневно в течение недели;

5) ультразвуковая обработка эксплантов (без химической); после посева однократная ультразвуковая обработка;

6) в качестве эксплантов использовали части листьев. Химическая обработка и УЗВ (ультразвуковое воздействие) каждый день в течение недели;

7) ультразвуковая обработка эксплантов (мощность 20 Вт в течение 1 мин) без химической обработки; УЗ каждый день в течение недели.

8) химическая обработка эксплантов 70 %-ным этанолом в ламинар-боксе без ультразвуковой обработки.

Результаты различных вариантов стерилизации и последующего каллусообразования приведены в таблице I.

Из Табл. I видно, что максимальная эффективность стерилизации и каллусообразования были достигнуты в вариантах опытов 7 и 8:

ТАБЛИЦА I
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАЗВУКА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ СТЕРИЛИЗАЦИИ ЭКСПЛАНТОВ И КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЯ

Показатели	№ опыта							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Общее число исходных пробирок с эксплантами	40							
Число пробирок после 4 недель культивирования	13	25	33	38	17	5	39	38
Число пробирок с каллусообразованием	1	12	18	24	16	2	26	25
Инфицировано	27	15	7	2	23	35	1	2
Эффективность стерилизации, %	33	60	82,5	94	41	3	97	97
Эффективность каллусообразования, %	33	30	45	63	47	5	65	62,5

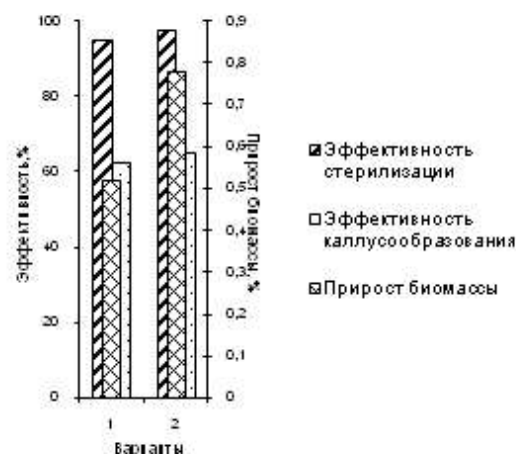
- ультразвуковая обработка эксплантов (мощность 20 Вт в течение 1 мин) без химической обработки; УЗ каждый день в течение недели;
- химическая обработка эксплантов 70 %-ным этанолом в ламинар-боксе без ультразвуковой обработки.

Данные условия считали оптимальными и использовали в дальнейших исследованиях.

Для оценки влияния ультразвука на рост биомассы сои исследовали 20 пробирок с каллусом, обработанные ультразвуком (20 Вт, 1 мин) в течение недели, и 20 пробирок с химической обработкой эксплантов 70 %-ным этанолом без ультразвука. По истечении 14 суток определяли прирост биомассы. Результаты приведены на комплексной диаграмме (Рис. 1).

Из диаграммы видно, что максимальная эффективность стерилизации и последующего каллусообразования наблюдались при обработке эксплантов только УЗ мощностью 20 Вт в течение 1 мин каждый день в течение недели (97,5 % и 65,0 % соответственно). При химической обработке эксплантов 70 %-ным этанолом без УЗ – обработки эффективность стерилизации и каллусообразования были ниже (97,0 % и 62,5 % соответственно).

Прирост биомассы полученного соевого каллуса под действием УЗ мощностью 20 Вт в течение 1 минуты на протяжении 1 недели культивирования был выше прироста биомассы без УЗ на 50 %.



Температура 26 °С. Влажность 70 %. В темноте. Длительность культивирования –14 дней.

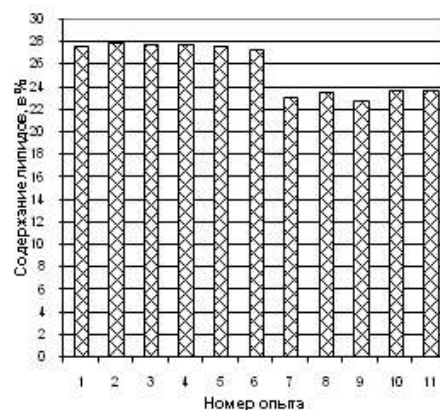
1- вариант без ультразвука;

2- обработка ультразвуком мощностью 20 Вт в течение 1 мин

Рис. 1 – Влияние ультразвуковой обработки на различные показатели в культуре клеток и тканей in vitro

2. Исследование зависимости содержания суммарных липидов в экстрактах из соевых бобов и каллуса сои от мощности и длительности ультразвукового воздействия

Результаты извлечения липидов из нативных соевых бобов и каллуса сои контрольные и с применением УЗ представлены в диаграмме на Рис. 2.



Номер опыта 1 ÷ 5 – при длительности УЗ – воздействия 1 минута

Номер опыта 7 ÷ 11 – при мощности УЗ – воздействия 40 Вт.

Температура 20 ± 2 °С.

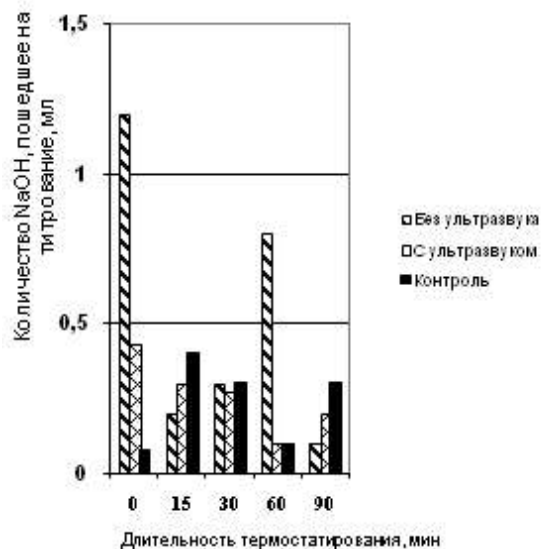
Рис. 2 – Зависимость содержания суммарных липидов в экстрактах из каллуса сои от мощности и длительности ультразвукового воздействия

Из диаграммы видно, что оптимальным можно считать 40 Вт, принятое для дальнейших опытов. Увеличение длительности УЗ – воздействия от 1 до 10 мин снижает суммарное содержание липидов в экстрактах. Минимальным (22,9 %) было значение при длительности УЗ обработки 6 мин, поэтому оптимальной была принята длительность УЗ обработки 1 минута.

Результаты по экстрактам из соевых бобов описаны в нашей статье ранее [6].

3. Исследование влияния ультразвука на активность липазы в водных экстрактах из соевых бобов и каллуса сои в процессе гидролиза растительных жиров

Полученные результаты представлены на диаграмме (Рис. 3) зависимости активности липазы в водных экстрактах из каллуса сои от длительности термостатирования и воздействия ультразвука. По оси абсцисс откладывали время термостатирования, а по оси ординат - объем в мл 0,1 н раствора NaOH, пошедший на титрование свободных жирных кислот, образовавшихся под действием липазы из каллуса сои за данный промежуток времени.



Температура 37 ± 1 °С. Длительность УЗ – воздействия 1 минута. Мощность УЗ – воздействия 40 Вт.

Рис. 3 - Зависимость активности липазы в водных экстрактах из каллуса сои от длительности термостатирования и воздействия ультразвука

Из диаграммы видно, что в колбе без ультразвукового воздействия и без термостатирования активность липазы была выше. При длительности термостатирования от 15 до 30 минут активность липазы изменялась незначительно.

Возрастание длительности термостатирования до 60 минут заметно повысило активность липазы в колбе без ультразвука, а в контроль-

ной колбе и колбе с ультразвуком активность липазы снизилась. При длительности термостатирования 90 минут происходило резкое снижение активности липазы в колбе без ультразвука, а в двух других колбах активность ее повышалась незначительно.

Результаты по экстрактам из соевых бобов описаны ранее [6].

4. Изучение методом ГЖХ зависимости жирнокислотного состава липидной фракции в экстрактах из соевых бобов от мощности и длительности обработки ультразвуком

Спиртово – хлороформные фракции, полученные в опыте 2, выпаривали на водяной бане для удаления растворителя. Подготовку пробы к хроматографированию проводили по методике описанной ранее. Результаты, полученные методом ГЖХ, обработанные с помощью компьютерной программы, приведены в Табл. II.

ТАБЛИЦА II
ЗАВИСИМОСТЬ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЛИПИДНОЙ ФРАКЦИИ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ СОЕВЫХ БОБОВ ОТ МОЩНОСТИ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ ОБРАБОТКИ УЛЬТРАЗВУКОМ

№ фракции	Концентрация жирных кислот, в %						
	миристиновая	пальмитиновая	пальмитолеиновая	стеариновая	олеиновая	линолевая	линоленовая
0	0,09	—	13,3	4,33	20,31	51,83	9,15
1	0,06	12,65	0,05	3,41	19,33	52,68	10,82
2	0,06	12,4	0,2	3,59	19,8	53,21	9,74
3	0,1	13,15	0,04	3,87	19,79	51,70	10,34
4	0,07	13,22	—	4,30	20,3	51,87	9,24
5	0,05	12,28	0,04	3,34	19,69	52,35	11,25
6	0,32	0,42	19,92	6,65	18,71	44,46	8,53
7	2,0	15,78	0,37	5,78	17,21	40,12	7,83
8	0,23	14,77	0,08	4,34	23,53	49,18	6,87
9	0,19	15,57	0,02	4,07	16,37	44,77	14,29
10	9,11	21,59	0,45	6,06	18,56	34,06	9,17

Из результатов, приведенных в таблице можно сделать вывод, что с помощью ультразвука можно регулировать жирнокислотный состав. Результаты по незаменимым жирным кислотам показали, что максимальное содержание пальмитиновой кислоты (21,6) наблюдается при обработке ультразвуком мощностью 80 Вт, длительность – 10 минут, а без обработки ее нет. Больше содержание стеариновой кислоты (6,65) при УЗ обработке мощностью 80 Вт, длительность –

2 минуты, меньшее (3,34) при мощности 100 Вт, длительность – 1 минута. Олеиновой кислоты больше (23,53) при УЗ - обработке мощностью 80 Вт в течение 6 минут, а наименьшее количество (16,37) при мощности 80 Вт, длительность – 8 минут. Максимальное содержание линолевой кислоты (53,21) наблюдается при обработке ультразвуком мощностью 40 Вт, длительность – 1 минута, минимальное (34,06) при обработке ультразвуком мощностью 80 Вт, длительность – 10 минут. Максимум линоленовой кислоты (14,3) был получен при обработке ультразвуком мощностью 80 Вт, длительность – 8 минут, а минимум (6,87) при обработке ультразвуком мощностью 80 Вт, длительность – 6 минут.

5. *Исследование влияния экстрагента и ультразвуковой обработки на выделение лецитина в экстракты из соевых бобов и каллуса сои*

Результаты в экстрактах из соевых бобов и каллуса сои полностью совпали и представлены в Табл. III.

ТАБЛИЦА III

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАГЕНТА И УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА ВЫДЕЛЕНИЕ ЛЕЦИТИНА ИЗ ЭКСТРАКТОВ СОЕВЫХ БОБОВ И КАЛЛУСА СОИ

Номер опыта	Качественные реакции					
	Осаждение ацетоном	Получение эмульсии лецитинов	Осаждение хлористым кальцием	Гидролиз лецитинов	Проба на жирные кислоты	Проба на глицерин
1	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—
Спиртовой экстракт	+	+	+	+	+	+

В качестве единственного эффективного экстрагента для извлечения лецитина из соевых бобов и каллуса сои можно считать кипящий этиловый спирт, совместно с которым применялась УЗ – обработка в опытах с 1 по 10. При этом ультразвук во всех опытах и режимах разрушал выделенный лецитин.

V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам данной комплексной работы можно сделать следующие выводы:

- подобраны оптимальные режимы стерилизации эксплантов, каллусообразования и прироста биомассы;

- максимальная эффективность стерилизации и последующего каллусообразования наблюдались при двух вариантах обработки эксплантов: 1) без химической обработки, только УЗ мощностью 20 Вт в течение 1 мин каждый день в течение недели (97,5 % и 65,0 % соответственно);

2) химическая обработка эксплантов 70 %-ным этанолом без УЗ – обработки (97,0 % и 62,5 % соответственно);

- прирост биомассы соевого каллуса под действием УЗ мощностью 20 Вт в течение 1 минуты на протяжении 1 недели культивирования выше прироста биомассы без УЗ на 50 %;

- исследована зависимость содержания суммарных липидов в экстрактах из соевых бобов и каллуса сои от мощности и длительности ультразвукового воздействия;

- оптимальными режимами УЗ – обработки для бобов сои можно считать 80 Вт в течение 10 минут содержание липидов увеличилось на 4,6 %, а для каллуса сои 40 Вт в течение 1 минуты содержание липидов увеличилось незначительно (на 0,6 %);

- установлена зависимость степени гидролиза растительного масла от наличия липазы из соевых бобов, от длительности термостатирования и воздействия ультразвука;

- предварительная УЗ - обработка ускоряет разложение масла на 30 минут и стабилизирует процесс на более высоком уровне;

- активность липазы в экстрактах из каллуса сои без УЗ - воздействия и без термостатирования была выше;

- исследовано влияние экстрагента и ультразвуковой обработки на выделение лецитина из соевых бобов и каллуса сои;

- наиболее эффективным экстрагентом является кипящий этиловый спирт, предварительная УЗ - обработка разрушает выделенный лецитин;

- исследована зависимость жирнокислотного состава липидной фракции в экстрактах из соевых бобов от мощности и длительности обработки ультразвуком;

- с помощью ультразвука можно регулировать жирнокислотный состав липидной фракции, выделенной из растительного сырья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Соевые бобы – ключевое звено современного производства и повышения качества питания человека // Пищевая промышленность – 1998. - №8. – С. 36-38.

- [2] Химия и биология бобовых растений: Пер. с англ. / Спектрова К. С.; Под ред. - Запроетова М. Н. – М.: Агропромиздат, 1986. – 336 с.
- [3] Диановая В.Г., Толстогузов В.Б. Фракционирование компонентов соевых бобов // Техника и технология. – 1988 - №11 – С. 36-37.
- [4] Сарвазян А.П. Взаимодействие ультразвука с биологической средой / А.П. Сарвазян // Акуст. Журн. – 1977. – №1. – С. 178-179.
- [5] Lamberova M.E., Khmeleva A.N., Emelianova I.S., Lamberova A.A., Kosolapova A..S. “Researching of Ultrasonic Influence to Sterilization and Plants Cells Growth of Culture In Vitro”, International Workshops and Tutorials on Electron Devices and Materials EDM’2006: Workshop Proceedings. – Novosibirsk: NSTU, 2006.
- [6] Koshelev Y.A., Lamberova M.E., Lamberova A.A. “Research of Influence of Ultrasound on Allocation from the Soya of the Grade «Altom» Lipid Fraction and Lecithin”, International Workshops and Tutorials on Electron Devices and Materials EDM’2007: Workshop Proceedings. – Novosibirsk: NSTU, 2007.
- [7] Koshelev Y.A., Lamberova M.E., Kosolapova A..S. “Research of Influence of Ultrasound on Allocation from the Soya of the Grade «Altom» Albuminous Fraction and Activity of Enzymes and Inhibitor of Tripsin”, International Workshops and Tutorials on Electron Devices and Materials EDM’2007: Workshop Proceedings. – Novosibirsk: NSTU, 2007.
- [8] Бутенко, Р. Г. Биотехнология растений: культура клеток и тканей / Р.Г. Бутенко. – М.: Агропромиздат, 1989. – 279с.



Marina E. Lamberova – Ph.D (chemistry), associated professor and deputy manager of biotechnology chair in BTI. Area of scientific interest are cell and tissue culture of agricultural and herb plants and biological active substances in extracts from this plants.



Anna A. Lamberova - She is student. Area of scientific interests is ultrasonic influence to soy cell and tissue culture in vitro, total lipids and ferments in extracts from buckwheat plants.

Yuriy A. Koshelev – Ph.D (pharmacy) professor of BTI. Area of scientific interests production of the pharmaceuticals from syntetic substances and vegetable medicinal cheese