Статья поступила в редакцию: 25.08.2026
Статья принята к публикации: 11.09.2026
Статья опубликована: 07.10.2026

УДК 579.222+577.112+543.544.5

DOI: 10.32743/UniChem.2026.148.10.23389

Сравнительный профиль свободных аминокислот в биомассе двух штаммов *Methylobacterium*, культивируемых на метаноле: предварительное исследование

Мардонов Икром Хасан угли
докторант (PhD)
Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: ikrom07021992@gmail.com

Бердиев Нодир Шарифович
канд. хим. наук
ст. науч. сотр. Институт биоорганической химии Академия наук Республики Узбекистан
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: nodir2884@gmail.com

Comparative free amino acid profile in the biomass of two *Methylobacterium* strains grown on methanol: a preliminary study

Mardonov Ikrom
PhD Student
Institute of Microbiology Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
Uzbekistan, Tashkent

Berdiev Nodir
candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher
Institute of Bioorganic Chemistry Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
Uzbekistan, Tashkent

Аннотация

Метилотрофные бактерии рассматриваются как продуценты микробной биомассы для получения одноклеточного белка (Single Cell Protein, SCP). Одной из характеристик такой биомассы является пул свободных аминокислот, отражающий текущее метаболическое состояние клеток. Целью работы явилось предварительное описательное сравнение профиля свободных аминокислот в биомассе двух штаммов — *Methylobacterium dankookense* 3HXI, выделенного из сточных вод Ташкентского завода по переработке бумаги, и *Methylobacterium fujisawaense* 1HXI, выделенного из плодов винограда сорта Сагдиана (Ташкентская область).

Библиографическое описание: Мардонов И.Х.У., Бердиев Н.Ш. Сравнительный профиль свободных аминокислот в биомассе двух штаммов Methylobacterium, культивируемых на метаноле: предварительное исследование // Universum: химия и биология : электрон. научн. журн. 2026. 10(148). URL: https://7universum.com/ru/nature/archive/item/23389

Штаммы культивировали на минеральной среде «K» с метанолом (1 % об./об.) при 35 °C в течение 72 ч; содержание свободных аминокислот определяли методом ВЭЖХ после дериватизации фенилизотиоцианатом. Суммарное содержание идентифицированных свободных аминокислот составило 88,536 мг/г сухой биомассы у *M. dankookense* 3HXI и 112,739 мг/г у *M. fujisawaense* 1HXI. У *M. dankookense* 3HXI преобладали аспарагиновая кислота, пролин, аланин и глутаминовая кислота, тогда как у *M. fujisawaense* 1HXI доминирующим компонентом был гистидин (29,012 мг/г; 25,7 % пула), за которым следовали пролин, аспарагиновая кислота и аланин. Различие между штаммами по суммарному содержанию определялось практически исключительно гистидином: при его исключении из расчёта суммарные пулы оказались сопоставимыми (88,240 и 83,727 мг/г). У *M. dankookense* 3HXI выше были уровни лейцина, лизина, треонина, валина и изолейцина, у *M. fujisawaense* 1HXI — гистидина, пролина, метионина и фенилаланина. Аспарагин, глутамин и триптофан в условиях применённого метода не обнаружены. Работа носит предварительный описательный характер: анализ выполнен однократно, без независимых биологических повторностей, без определения общего содержания белка и аминокислотного состава гидролизата; значение для гистидина, определяющее различие между штаммами, получено в однократном определении и требует подтверждения повторным анализом. Полученные данные не могут рассматриваться как прямая оценка кормовой ценности биомассы и требуют подтверждения в дальнейших исследованиях.

Abstract

Methylotrophic bacteria are considered producers of microbial biomass for single-cell protein (SCP). One characteristic of such biomass is its free amino acid pool, which reflects the current metabolic state of the cells. The aim of this work was a preliminary descriptive comparison of the free amino acid profile in the biomass of two strains — *Methylobacterium dankookense* 3HXI, isolated from the wastewater of the Tashkent paper recycling plant, and *Methylobacterium fujisawaense* 1HXI, isolated from fruits of the Sagdiana grape cultivar (Tashkent region). The strains were cultivated in mineral medium “K” with methanol (1 % v/v) at 35 °C for 72 h; free amino acids were determined by HPLC after phenylisothiocyanate derivatisation. The total content of identified free amino acids was 88.536 mg/g dry biomass in *M. dankookense* 3HXI and 112.739 mg/g in *M. fujisawaense* 1HXI. Aspartic acid, proline, alanine and glutamic acid predominated in *M. dankookense* 3HXI, whereas in *M. fujisawaense* 1HXI the dominant component was histidine (29.012 mg/g; 25.7 % of the pool), followed by proline, aspartic acid and alanine. The difference between the strains in total content was accounted for almost entirely by histidine: when histidine was excluded, the total pools were comparable (88.240 and 83.727 mg/g). *M. dankookense* 3HXI showed higher levels of leucine, lysine, threonine, valine and isoleucine, whereas *M. fujisawaense* 1HXI showed higher levels of histidine, proline, methionine and phenylalanine. Asparagine, glutamine and tryptophan were not detected under the conditions of the method used. The study is preliminary and descriptive: the analysis was performed once, without independent biological replicates and without determination of total protein content or the amino acid composition of the hydrolysate. The histidine value, which determines the difference between the strains, was obtained

in a single determination and requires confirmation by repeat analysis. The data therefore cannot be regarded as a direct assessment of the feed value of the biomass and require confirmation in further studies.

Ключевые слова: метилотрофные бактерии, Methylobacterium dankookense, Methylobacterium fujisawaense, свободные аминокислоты, профиль свободных аминокислот, метанол, ВЭЖХ, одноклеточный белок (Single Cell Protein, SCP), предварительное исследование.

Keywords: methylotrophic bacteria, Methylobacterium dankookense, Methylobacterium fujisawaense, free amino acids, free amino acid profile, methanol, HPLC, single-cell protein (SCP), preliminary study.

Введение

За последние десятилетия рост численности населения мира, интенсивное развитие животноводства, птицеводства и аквакультуры привели к значительному увеличению спроса на высококачественные источники белка. В то же время производство традиционных белковых источников, таких как соевый и рыбный шрот, сталкивается с рядом проблем, связанных с ограниченностью земельных и водных ресурсов, изменением климата, ростом стоимости сырья и усилением антропогенной нагрузки на окружающую среду. В связи с этим разработка устойчивых, экологически безопасных и экономически эффективных альтернативных источников белка для кормопроизводства рассматривается как одно из приоритетных направлений современной биотехнологии [9, 8].

Микробная биомасса, используемая для получения одноклеточного белка (Single Cell Protein, SCP), рассматривается как альтернатива традиционным источникам белка благодаря высокому содержанию белка, высокой скорости роста микроорганизмов и отсутствию потребности в использовании плодородных сельскохозяйственных земель. Бактериальная биомасса обычно содержит 50–80 % белка в пересчёте на сухую массу [7].

Среди источников углерода для получения микробного белка особое внимание уделяется одноуглеродным (C1) соединениям, в первую очередь метанолу. Метанол производится в больших объёмах, не конкурирует с пищевым сырьём, характеризуется высокой химической чистотой и эффективно ассимилируется метилотрофными микроорганизмами [3, 12].

Следует подчеркнуть, что получение SCP на метаноле не является новым направлением. Промышленная реализуемость такого процесса была продемонстрирована ещё при разработке технологии Pruteen, а в последние годы метилотрофные продуценты активно изучаются как на уровне отдельных штаммов, так и на уровне технологических платформ [12]. Для рода *Methylobacterium* соответствующие данные обобщены в специализированном обзоре [5]. В частности, для *Methylobacterium organophilum* при культивировании на метаноле были определены максимальная концентрация биомассы 5,05 г/л, удельная скорость роста 0,11 $ч^{-1}$, экономический коэффициент по субстрату 0,24 г/г, содержание сырого протеина 54,1 ± 2,9 % и аминокислотный состав белковой фракции [11]. Для *Methylophilus* sp. HN238 при оптимизации ферментации в биореакторе объёмом 5 л достигнуто содержание белка 57,3 %, при этом доля незаменимых аминокислот составила

44,10 % [10]. На этом фоне настоящая работа не претендует на технологическую оценку продуцентов: она ограничена аналитическим описанием одного показателя — пула свободных аминокислот двух природных изолятов.

Важно различать два принципиально разных показателя. Аминокислотный состав клеточного белка определяется после кислотного гидролиза белковой фракции и служит основой для расчёта показателей качества белка — аминокислотного скора (AAS) и индекса незаменимых аминокислот (EAAI), рассчитываемых относительно нормативов ФАО/ВОЗ [13]. Пул свободных аминокислот, напротив, представляет собой низкомолекулярную внутриклеточную фракцию, которая отражает текущее метаболическое и физиологическое состояние культуры и не является эквивалентом аминокислотного состава белка. Тем не менее сведения о профиле свободных аминокислот у природных штаммов метилотрофных бактерий остаются ограниченными, а сравнительные данные для изолятов из различных экологических ниш практически отсутствуют.

Исходя из этого, целью настоящей работы явилось предварительное описательное сравнение профиля свободных аминокислот в биомассе двух штаммов метилотрофных бактерий — *Methylobacterium dankookense* 3HXI и *Methylobacterium fujisawaense* 1HXI, выделенных из различных экологических ниш и культивируемых на метаноле в качестве единственного источника углерода. Ранее указанные штаммы были отобраны нами как активные продуценты биомассы при росте на низкомолекулярных спиртах [6]. Задача количественной оценки кормовой ценности биомассы в рамках настоящей работы не ставилась.

Материалы и методы

Штаммы. В работе использовали штаммы Methylobacterium dankookense 3HXI, выделенный из сточных вод Ташкентского завода по переработке бумаги, и Methylobacterium fujisawaense 1HXI, выделенный из плодов винограда сорта Сагдиана, выращенного в Ташкентской области. Выделение штаммов из указанных источников и их отбор как активных продуцентов биомассы при росте на низкомолекулярных спиртах описаны ранее [6]. Видовая принадлежность штаммов была установлена на основании анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. Полученные последовательности депонированы в базе данных NCBI GenBank: M. dankookense 3HXI — PX924540.1, M. fujisawaense 1HXI — PX924362.1. Оба штамма способны использовать метанол в качестве единственного источника углерода и энергии.

Условия культивирования. Бактерии выращивали в жидкой минеральной среде «К» следующего состава (г/л): KH_2PO_4 — 2,0; $(NH_4)_2SO_4$ — 2,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,025; NaCl — 0,5; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,002; метанол — 1 % (об./об.); дистиллированная вода — до 1 л; pH среды 7,2. Посевной материал вносили в количестве 10 % (об./об.) из 72-часовой культуры с оптической плотностью OD_{600} = 1,02. Культивирование проводили в колбах Эрленмейера объёмом 300 мл с объёмом среды 100 мл (отношение объёма среды к объёму газовой фазы 1:2) при 35 °C в течение 72 ч на орбитальном шейкере при 200 об/мин. Каждый штамм культивировали однократно (одна колба, без независимых биологических повторностей).

Получение сухой биомассы. По окончании культивирования (72 ч) биомассу отделяли центрифугированием при 10 000 об/мин в течение 10 мин на рефрижераторной центрифуге BKC-VH20R (BIOBASE, Китай) при 4 °C. Клеточный осадок трижды отмывали дистиллированной водой с повторным центрифугированием в тех же условиях для удаления остаточной среды и внеклеточных метаболитов. Отмытую биомассу высушивали лиофильно (температура замораживания −25−30 °C) до постоянной массы и взвешивали на аналитических весах.

Получение водного экстракта свободных аминокислот. Навеску лиофильно высушенной бактериальной биомассы массой 1000 мг суспендировали в 10 мл деионизированной воды. Для разрушения бактериальных клеток полученную суспензию подвергали ультразвуковой дезинтеграции в течение 20 мин с использованием ультразвукового дезинтегратора UCD-150 (BIOBASE, Китай). Ультразвуковую обработку проводили при охлаждении образца в ледяной бане, поддерживая температуру суспензии не выше +4 °C. После дезинтеграции экстракцию проводили при 35 °C в течение 40 мин. Затем нерастворимый материал отделяли центрифугированием при 8000 об/мин в течение 30 мин. Полученный супернатант использовали в качестве водного экстракта для последующего определения свободных аминокислот.

Осаждение белков и пептидов. К 1,0 мл вышеуказанного водного экстракта добавляли 1,0 мл 20 %-ного раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУК). После инкубации в течение 10 мин осадок отделяли центрифугированием при 8000 об/мин в течение 15 мин. Из надосадочной жидкости отбирали 0,1 мл и лиофильно высушивали. Сухой остаток растворяли в смеси триэтиламин–ацетонитрил–вода (1:7:1) и вновь высушивали; процедуру повторяли дважды для полной нейтрализации остаточной кислоты.

Дериватизация. Фенилтиокарбамильные (ФТК) производные аминокислот получали путём предколоночной дериватизации фенилизотиоцианатом (PITC) по методу Bidlingmeyer et al. [1].

Условия ВЭЖХ. Анализ выполняли на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1200 с диодно-матричным детектором (DAD), колонка Discovery HS C18 (75 × 4,6 мм). Объём инъекции 5,0 мкл. Подвижная фаза: раствор А — 0,14 М ацетат натрия с 0,05 % триэтиламина, pH 6,4; раствор В — ацетонитрил. Скорость потока 1,2 мл/мин; детектирование при 269 нм (аналитическая длина волны), длина волны сравнения 360 нм. Градиентное элюирование (% В/время): 1–6 % (0–2,5 мин); 6–30 % (2,51–40,0 мин); 30–60 % (40,1–45,0 мин); 60 % (45,1–50,0 мин); 60–0 % (50,1–55,0 мин). Общая продолжительность хроматографирования составляла около 55 мин. Анализ проб выполнен 23.01.2026.

Идентификация и количественное определение. Идентификацию пиков проводили по временам удерживания хроматограммы стандартной смеси аминокислот, полученной в тех же хроматографических условиях. Количественное определение выполняли методом внешнего стандарта; внутренний стандарт не применялся. Расчёт содержания аминокислот в пересчёте на сухую биомассу выполнен аналитической лабораторией и предоставлен авторам в виде итогового протокола. Приведённые в настоящей работе значения соответствуют этому протоколу и не пересчитывались авторами; проведена только проверка арифметической согласованности итоговых сумм.

Расчёт содержания. Содержание каждой свободной аминокислоты в пересчёте на сухую биомассу рассчитывали по формуле:

$C = (C_{хр} \times V_{экстр} \times k) / (m_{сух} \times 1000)$,

где C — содержание аминокислоты, мг/г сухой биомассы; Cхр — концентрация аминокислоты в анализируемом растворе по данным ВЭЖХ, мкг/мл; Vэкстр — общий объём водного экстракта, мл; k — суммарный коэффициент разбавления, учитывающий стадии осаждения ТХУК, отбора аликвоты и перерастворения сухого остатка; mсух — навеска сухой биомассы, г. Значения в таблице приведены с тремя знаками после запятой в соответствии с протоколом анализа. Суммы, приведённые в таблице 1 и в тексте, получены прямым сложением табличных значений; они отличаются от итоговых сумм протокола анализа на 0,002 мг/г, что обусловлено округлением исходных данных.

Обработка данных. Определение выполнено однократно для каждого штамма (одна культура, одна пробоподготовка, одна хроматографическая инъекция). Независимые биологические повторности и повторные инъекции не проводились, поэтому стандартное отклонение, доверительные интервалы и коэффициенты вариации не приводятся, а статистическое сравнение штаммов не выполнялось. Все приведённые различия между штаммами являются описательными и не подтверждены статистически. Аналитическая и культуральная вариабельность метода в настоящем исследовании не оценивалась.

Результаты исследований

Профили свободных аминокислот биомассы исследованных штаммов приведены в таблице 1. Суммарное содержание идентифицированных свободных аминокислот составило 88,536 мг/г сухой биомассы у *Methylobacterium dankookense* 3HXI и 112,739 мг/г у *Methylobacterium fujisawaense* 1HXI, то есть у второго штамма оно было выше на 24,203 мг/г (на 27,3 % относительно значения для *M. dankookense* 3HXI).

Анализ вклада отдельных компонентов показал, что это различие определяется практически исключительно одним соединением. Содержание свободного гистидина составило 29,012 мг/г у *M. fujisawaense* 1HXI против 0,296 мг/г у *M. dankookense* 3HXI, то есть только по этому компоненту разница составила 28,716 мг/г — величину, превышающую разницу по суммарному пулу. При исключении гистидина из расчёта суммарные содержания оказываются сопоставимыми и даже несколько выше у *M. dankookense* 3HXI: 88,240 против 83,727 мг/г (различие 5,4 %). Таким образом, по всем остальным компонентам пула штаммы близки, а наблюдаемое различие по сумме является следствием накопления гистидина у *M. fujisawaense* 1HXI.

Набор доминирующих компонентов у штаммов различался. У *M. dankookense* 3HXI наибольшие значения отмечены для аспарагиновой кислоты (14,714 мг/г; 16,6 % суммарного пула), пролина (12,104 мг/г; 13,7 %), аланина (10,842 мг/г; 12,2 %) и глутаминовой кислоты (10,630 мг/г; 12,0 %); в совокупности эти четыре компонента составляли 54,5 % пула. У *M. fujisawaense* 1HXI доминирующим компонентом был гистидин (29,012 мг/г; 25,7 % пула), далее следовали пролин (19,370 мг/г; 17,2 %), аспарагиновая кислота (15,183 мг/г; 13,5 %)

и аланин (9,663 мг/г; 8,6 %); на эти четыре компонента приходилось 65,0 % пула. Следует отметить, что по абсолютному содержанию аспарагиновой кислоты, пролина и аланина штаммы были близки, а различие в структуре пула создаётся преимущественно гистидином.

По отдельным незаменимым аминокислотам различия носили разнонаправленный характер. У *M. dankookense* 3HXI были выше значения для лейцина (8,065 против 0,822 мг/г), лизина (4,224 против 0,060 мг/г), треонина (3,178 против 2,385 мг/г), валина (2,625 против 2,043 мг/г) и изолейцина (3,487 против 2,962 мг/г). У *M. fujisawaense* 1HXI были выше значения для гистидина (29,012 против 0,296 мг/г), пролина (19,370 против 12,104 мг/г), метионина (3,959 против 1,273 мг/г) и фенилаланина (4,883 против 2,266 мг/г). Содержание аргинина было практически одинаковым (0,886 и 0,887 мг/г). Суммарная доля незаменимых аминокислот составила 28,7 % пула у *M. dankookense* 3HXI и 40,9 % у *M. fujisawaense* 1HXI; при исключении гистидина соотношение меняется на противоположное — 28,4 и 15,2 % соответственно.

Полученные значения требуют осторожной интерпретации в двух отношениях. Во-первых, значения лейцина (0,822 мг/г) и лизина (0,060 мг/г) у *M. fujisawaense* 1HXI находятся в нижней части рабочего диапазона метода и формально дают различия между штаммами примерно в 9,8 и 70 раз соответственно. Во-вторых, значение гистидина у того же штамма (29,012 мг/г) почти на два порядка превышает значение у *M. dankookense* 3HXI (0,296 мг/г) и является определяющим для всех различий по суммарному содержанию. Оба наблюдения получены в однократном определении, без повторных инъекций, без демонстрации воспроизводимости и без независимого подтверждения идентичности соответствующих хроматографических пиков. Поэтому в настоящей работе они приводятся как первичные аналитические данные, требующие подтверждения, и не используются как основание для количественных выводов.

Аспарагин, глутамин и триптофан в свободной форме не были обнаружены в биомассе обоих штаммов в условиях применённого метода. В протоколе анализа для этих позиций приведено значение 0,000; в таблице 1 они обозначены как «н/о» (не обнаружено), поскольку запись 0,000 подразумевала бы доказанное нулевое содержание, тогда как фактически речь идёт об отсутствии сигнала, отнесённого к соответствующей аминокислоте.

Таблица 1.

Профиль свободных аминокислот в биомассе штаммов M. dankookense 3HXI и M. fujisawaense 1HXI, мг/г сухой биомассы (однократное определение)

Аминокислота	*M. dankookense* 3HXI, мг/г	*M. fujisawaense* 1HXI, мг/г
Аспарагиновая кислота (Asp)	14,714	15,183
Глутаминовая кислота (Glu)	10,630	8,682
Серин (Ser)	1,730	1,937
Глицин (Gly)	7,608	6,853
Аспарагин (Asn)	н/о	н/о
Глутамин (Gln)	н/о	н/о
Цистеин (Cys)	1,375	1,274
Треонин (Thr)*	3,178	2,385
Аргинин (Arg)	0,886	0,887
Аланин (Ala)	10,842	9,663

Аминокислота	*M. dankookense* 3HXI, мг/г	*M. fujisawaense* 1HXI, мг/г
Пролин (Pro)	12,104	19,370
Тирозин (Tyr)	3,233	2,764
Валин (Val)*	2,625	2,043
Метионин (Met)*	1,273	3,959
Гистидин (His)*	0,296	29,012***
Изолейцин (Ile)*	3,487	2,962
Лейцин (Leu)*	8,065	0,822**
Триптофан (Trp)*	н/о	н/о
Фенилаланин (Phe)*	2,266	4,883
Лизин (Lys)*	4,224	0,060**
Сумма идентифицированных свободных аминокислот	**88,536**	**112,739**

Обсуждение

Полученные данные показывают, что по большинству компонентов пула свободных аминокислот исследованные штаммы при росте на метаноле оказались близки, а основное различие между ними связано с одним соединением — гистидином. Наличие в биомассе обоих штаммов заметных количеств аспарагиновой и глутаминовой кислот согласуется с их центральной ролью в азотном обмене бактерий: эти соединения участвуют в реакциях трансаминирования и служат донорами аминогрупп при синтезе других азотсодержащих метаболитов. Вместе с тем следует подчеркнуть, что однократное измерение статического пула метаболитов не позволяет делать выводы об интенсивности азотного обмена или синтетических процессов: для таких заключений необходимы динамические измерения, анализ потоков метаболитов, данные об экспрессии ферментов или сопоставление нескольких фаз роста. В настоящей работе такие данные не получены.

Высокое содержание свободного гистидина у *M. fujisawaense* 1HXI представляет наибольший интерес и одновременно требует наибольшей осторожности. С одной стороны, преобладание гистидина не является беспрецедентным для представителей рода *Methylobacterium*: в работе Simões и соавт. [11] при анализе аминокислотного состава биомассы *M. organophilum*, выращенной на метаноле, именно гистидин был выявлен в наибольшем количестве (17,0 ± 2,8 %). Совпадение направления результата с независимо опубликованными данными делает наблюдаемое накопление гистидина биологически правдоподобным. С другой стороны, в настоящей работе это значение получено в однократном определении; независимое подтверждение идентичности соответствующего пика и оценка воспроизводимости не проводились. Поэтому обсуждаемое накопление гистидина следует рассматривать как наблюдение, требующее целенаправленной проверки, а не как установленную штаммовую характеристику. Проверка этого наблюдения — определение содержания гистидина в независимых биологических повторностях с подтверждением идентичности пика — представляет собой первоочередную задачу дальнейших исследований.

Прямое сопоставление наших результатов с опубликованными данными по метилотрофным продуцентам ограничено различием объектов измерения. В работе Simões и соавт. [11] для *M. organophilum*, выращенной на метаноле, определяли аминокислотный состав белковой фракции и выражали его преимущественно в процентах, одновременно приводя ключевые технологические характеристики процесса: концентрацию биомассы 5,05 г/л, удельную скорость роста 0,11 $ч^{-1}$, экономический коэффициент 0,24 г/г и содержание сырого протеина 54,1 ± 2,9 %. В настоящей работе ни один из этих показателей не определялся, а измеряемой величиной был свободный (низкомолекулярный) аминокислотный пул в мг/г сухой биомассы. Поэтому наши данные не могут быть непосредственно сопоставлены с [11] и не позволяют оценить, превосходят ли изученные штаммы известных метилотрофных продуцентов.

Существенным ограничением является также отсутствие сведений о физиологическом состоянии культур в момент отбора. Оба штамма выращивали 72 ч в одинаковых условиях, однако при равном времени культивирования разные штаммы могут находиться в разных фазах роста: один — в поздней экспоненциальной, другой — в стационарной фазе или в состоянии субстратного голодания. Кривые роста, оптическая плотность при сборе, остаточная концентрация метанола, конечный pH и выход сухой биомассы в настоящей работе не регистрировались. Соответственно, выявленные различия в профилях свободных аминокислот могут отражать не устойчивые штаммовые особенности, а разное физиологическое состояние культур на момент отбора проб. Это существенно применительно к пролину, содержание которого у *M. fujisawaense* 1HXI было в 1,6 раза выше, чем у *M. dankookense* 3HXI: пролин у бактерий выполняет функцию совместимого осмолита и накапливается при осмотическом, кислотном и других видах стресса [4]. Повышенный уровень свободного пролина, таким образом, с равной вероятностью может отражать стрессовый ответ культуры, а не видоспецифическую особенность метаболизма.

Различия между штаммами по содержанию отдельных незаменимых аминокислот носят разнонаправленный характер: *M. dankookense* 3HXI отличался более высокими значениями для лизина, лейцина, треонина, валина и изолейцина, тогда как *M. fujisawaense* 1HXI — для гистидина, метионина и фенилаланина. Ни один из штаммов не имел преимущества по всем незаменимым аминокислотам одновременно. Формально более высокая суммарная доля незаменимых аминокислот у *M. fujisawaense* 1HXI (40,9 против 28,7 %) обеспечивается исключительно гистидином: без его учёта соотношение меняется на противоположное (15,2 против 28,4 %). Это наглядно показывает, что интегральные показатели, рассчитанные по пулу свободных аминокислот, крайне чувствительны к единственному компоненту и не могут служить самостоятельной характеристикой качества белка. По этой причине в настоящей работе сознательно не используется характеристика «более сбалансированный профиль». Сбалансированность аминокислотного состава является нормативным понятием и определяется не числом аминокислот, по которым один образец превосходит другой, а сопоставлением с конкретной эталонной потребностью — например, посредством расчёта аминокислотного скора (AAS) относительно требований ФАО/ВОЗ и индекса незаменимых аминокислот (EAAI) [13]. Так, лизин имеет особое значение при составлении рационов на зерновой основе, где он часто выступает первой лимитирующей аминокислотой [14]; однако вывод о том, покрывает ли биомасса данного штамма

потребность конкретного вида (птицы, свиней, жвачных или рыб), возможен только при сопоставлении с соответствующим эталонным профилем. Оба указанных показателя рассчитываются по аминокислотному составу гидролизованного белка, а не по пулу свободных аминокислот, и в настоящей работе не определялись.

Необнаружение аспарагина, глутамина и триптофана согласуется с методическими ограничениями примененной схемы анализа. Известно, что при ФТК-дериватизации и обращённо-фазовом разделении часть аминокислот может не определяться; в частности, Simões и соавт. [11] отмечали, что метионин, цистеин и аспарагин у *M. organophilum* вероятнее всего не были идентифицированы по методическим причинам. Для триптофана, кроме того, требуется отдельная методика щелочного гидролиза. Поэтому корректной является формулировка «не обнаружено в условиях применённого метода», а не утверждение об отсутствии данных соединений в клетках.

Практическая значимость микробной биомассы метилотрофных бактерий в кормопроизводстве подтверждается независимыми исследованиями. Так, бактериальная мука на основе *Methylococcus capsulatus* успешно применялась для частичной замены рыбной муки в рационе молоди чёрного морского леща [15], а современные обзоры указывают на высокую переваримость и приемлемый аминокислотный состав SCP в кормах для объектов аквакультуры, отмечая при этом зависимость эффективности от конкретного продуцента, технологии переработки и уровня включения в рацион [2]. Настоящее исследование не даёт оснований для отнесения изученных штаммов к этой категории: для такого вывода требуются данные о выходе биомассы, общем содержании белка, полном аминокислотном составе гидролизата, содержании нуклеиновых кислот, переваримости и безопасности.

Ограничения исследования. Авторы считают необходимым явно перечислить ограничения настоящей работы. (1) Определение выполнено однократно для каждого штамма, без независимых биологических повторностей и повторных хроматографических инъекций; показатели разброса не рассчитывались, статистическое сравнение не выполнялось. (2) Измерена только фракция свободных аминокислот; общее содержание белка, выход сухой биомассы и аминокислотный состав гидролизата не определялись, вследствие чего показатели качества белка (AAS, EAAI) рассчитать невозможно. (3) Физиологическое состояние культур в момент отбора не документировано: кривые роста, оптическая плотность при сборе, остаточная концентрация метанола и конечный pH не регистрировались. (4) Хроматографическая методика применена как процедура разделения и количественного определения по внешнему стандарту; полная валидация (оценка правильности, прецизионности, отсутствия коэлюирования), а также определение предела обнаружения и предела количественного определения в рамках настоящей работы не проводились, поэтому соответствующие метрологические характеристики не приводятся. (5) Идентификация пиков основана на временах удерживания стандартной смеси; независимое подтверждение идентичности пиков не выполнялось. (6) Ключевое наблюдение работы — высокое содержание свободного гистидина у *M. fujisawaense* 1HXI — получено в однократном определении и требует подтверждения. С учётом перечисленного результаты настоящей работы имеют статус предварительной аналитической характеристики и не могут использоваться для оценки кормовой ценности биомассы.

Заключение

В работе выполнено предварительное описательное сравнение профиля свободных аминокислот в биомассе двух штаммов метилотрофных бактерий — *M. dankookense* 3HXI и *M. fujisawaense* 1HXI, культивируемых на метаноле в качестве единственного источника углерода.

Суммарное содержание идентифицированных свободных аминокислот составило 88,536 мг/г сухой биомассы у *M. dankookense* 3HXI и 112,739 мг/г у *M. fujisawaense* 1HXI. Установлено, что это различие определяется практически исключительно гистидином: при его исключении из расчёта суммарные пулы штаммов оказываются сопоставимыми (88,240 и 83,727 мг/г). У *M. dankookense* 3HXI преобладали аспарагиновая кислота, пролин, аланин и глутаминовая кислота, у *M. fujisawaense* 1HXI — гистидин, пролин, аспарагиновая кислота и аланин.

По отдельным незаменимым аминокислотам различия носили разнонаправленный характер: у *M. dankookense* 3HXI были выше значения для лейцина, лизина, треонина, валина и изолейцина, у *M. fujisawaense* 1HXI — для гистидина, метионина и фенилаланина. Аспарагин, глутамин и триптофан в условиях применённого метода не обнаружены.

Выявленное накопление свободного гистидина у *M. fujisawaense* 1HXI согласуется по направлению с опубликованными данными для *M. organophilum*, у которой гистидин также был преобладающим компонентом. Вместе с тем в настоящей работе это значение получено в однократном определении без подтверждения идентичности пика, и его проверка рассматривается авторами как первоочередная задача дальнейших исследований.

Полученные результаты носят характер первичной аналитической характеристики двух изолятов и не являются оценкой их кормовой ценности. Для того чтобы судить о пригодности данных штаммов в качестве продуцентов белковой кормовой добавки, необходимы дальнейшие исследования, включающие проведение независимых биологических повторностей с оценкой разброса и валидацией хроматографической методики, регистрацию параметров роста и выхода сухой биомассы, определение общего содержания белка и полного аминокислотного состава гидролизата с расчётом AAS и EAAI относительно потребностей конкретного вида животных, а также оценку содержания нуклеиновых кислот, переваримости и безопасности биомассы.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Институту микробиологии Академии наук Республики Узбекистан за предоставленную возможность проведения исследований и создание необходимых условий для выполнения экспериментальной работы. Авторы благодарят У.Ж. Ишимова за выполнение хроматографического анализа свободных аминокислот.

Список литературы

1. Bidlingmeyer B.A., Cohen S.A., Tarvin T.L. Rapid analysis of amino acids using pre-column derivatization // Journal of Chromatography. – 1984. – T. 336. – P. 93–104.

2. Buttle L., Noorman H., Roa Engel C., Santigosa E. Bridging the protein gap with single-cell protein use in aquafeeds // Frontiers in Marine Science. – 2024. – T. 11. – Art. 1384083. – DOI: 10.3389/fmars.2024.1384083.
3. Fu X., Qiao W., Shi S. Microbial production of single cell proteins from single carbon substrates: a review // Food Science (Shipin Kexue). – 2023. – T. 44, № 3. – P. 1–11.
4. Goswami G., Hazarika D.J., Chowdhury N., Bora S.S., Sarmah U., Naorem R.S., Boro R.C., Barooah M. Proline confers acid stress tolerance to Bacillus megaterium G18 // Scientific Reports. – 2022. – T. 12. – Art. 8875. – DOI: 10.1038/s41598-022-12709-0.
5. Gundupalli M.P., Ansari S. da Costa J.P.V., Qiu F., Anderson J., Luckert M., Bressler D.C. Bacterial single cell protein (BSCP): a sustainable protein source from Methylobacterium species // Trends in Food Science & Technology. – 2024. – Art. 104426. – DOI: 10.1016/j.tifs.2024.104426.
6. Mardonov I.H., Shakirov Z.S., Xayrullayev A.X., Qurbonaliyeva M.N., Xudoyberdiyeva Sh.I., Azimova N.Sh. Past molekulali spirtlar asosida ozuqa oqsili olish uchun faol shtammlarni tanlash // International Scientific and Practical Conference “State and Prospects of Development of Fundamental and Applied Microbiology”, September 24–25. – 2025.
7. Meng J., Liu S., Gao L., Hong K., Liu S., Wu X. Economical production of Pichia pastoris single cell protein from methanol at industrial pilot scale // Microbial Cell Factories. – 2023. – T. 22. – Art. 198. – DOI: 10.1186/s12934-023-02198-9.
8. Nath S. Integration of microbial proteins into traditional food systems: innovations, challenges, and future perspectives // Food Reviews International. – 2026. – T. 42, № 3. – P. 1532–1557. – DOI: 10.1080/87559129.2025.2520453.
9. Rasool K., Hussain S., Shahzad A., Miran W., Mahmoud K.A., Ali N., Almomani F. Comprehensive insights into sustainable conversion of agricultural and food waste into microbial protein for animal feed production // Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. – 2023. – T. 22. – P. 527–562. – DOI: 10.1007/s11157-023-09651-6.
10. Shi A., Chi M., Zhu Z., Bai W., Cai J., Chen L., Li D. Screening and fermentation optimization of Methylophilus sp. HN238 for efficient microbial protein production using methanol // Systems Microbiology and Biomanufacturing. – 2025. – T. 5, № 3. – P. 1050–1066. – DOI: 10.1007/s43393-025-00373-0.
11. Simões A.C.P., Fernandes R.P., Barreto M.S. Marques da Costa G.B., de Godoy M.G., Freire D.M.G., Pereira Jr. N. Growth of Methylobacterium organophilum in methanol for the simultaneous production of single-cell protein and metabolites of interest // Food Technology and Biotechnology. – 2022. – T. 60, № 3. – P. 338–349. – DOI: 10.17113/ftb.60.03.22.7372.
12. Singh H.B., Kang M.-K., Kwon M., Kim S.-W. Developing methylotrophic microbial platforms for a methanol-based bioindustry // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2022. – T. 10. – Art. 1050740. – DOI: 10.3389/fbioe.2022.1050740.
13. Takegawa R., Kono N. Species selection criteria for sustainable bacterial single cell protein // npj Science of Food. – 2026. – T. 10. – Art. 231. – DOI: 10.1038/s41538-026-00828-1.

14. Toride Y. Lysine and other amino acids for feed: production and contribution to protein utilization in animal feeding // Protein Sources for the Animal Feed Industry: FAO Expert Consultation and Workshop, Bangkok, Thailand, 29 April – 3 May 2002. FAO Animal Production and Health Proceedings No. 1. – Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004. – № 1. – P. 161–166.
15. Xu B., Liu Y., Chen K., Wang L., Sagada G., Tegomo A.F., Yang Y., Sun Y., Zheng L., Ullah S., Shao Q. Evaluation of methanotroph (Methylococcus capsulatus, Bath) bacteria meal (FeedKind®) as an alternative protein source for juvenile black sea bream, Acanthopagrus schlegelii // Frontiers in Marine Science. – 2021. – T. 8. – Art. 778301. – DOI: 10.3389/fmars.2021.778301.