

УДК 599.323.4:577.17

DOI: 10.33284/2658-3135-102-4-208

Влияние пробиотических штаммов рода *Bacillus* на биохимические показатели крови и концентрацию меди в организме животных

Т.А. Климова^{1,2}, А.Н. Сизенцов², Я.А. Сизенцов², И.З. Губайдулина¹

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (г. Оренбург)

²Оренбургский государственный университет (г. Оренбург)

Аннотация. В статье представлены результаты экспериментальных исследований по изучению эффективности применения пробиотических штаммов рода *Bacillus* при дефиците меди у животных (на примере крыс). В качестве пробиотического агента были использованы бактерии рода *Bacillus*: «Ветом 2» (штамм *B. subtilis* 7048 и штамм *B. licheniformis* 7038) и «Споробактерин» (штамм *B. subtilis* 534). Регулирующим фактором избыточной концентрации ионов меди в эксперименте выступил $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, создающий высокие концентрации элемента в питательном субстрате. Оценка эффективности применения полученных биологически активных соединений проводилась с использованием атомно-адсорбционной спектрофотометрии, в качестве биологических образцов использовали кожный покров, мышечную и костную ткани. Полученные данные свидетельствуют о высоком потенциале применения пробиотических препаратов, позволяющих стимулировать накопление меди в организме. Так, в образцах опытных групп концентрация исследуемого элемента превышала значения группы контроля с низким содержанием меди в рационе на 98,61 %, 108,33 %, и 81,94 % в конце исследования. На основании оценки уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и щелочной фосфатазы в сыворотке крови установлено отсутствие патологического влияния тестируемых соединений на гепатоциты, о чём свидетельствует динамика исследуемых показателей в пределах референтных значений на протяжении всего эксперимента.

Ключевые слова: животные, крысы, кормление, медь, пробиотические препараты, бактерии рода *Bacillus*, минералдефицитные состояния.

UDC 599.323.4:577.17

The effect of probiotic strains of *Bacillus* genus on blood biochemical parameters and copper concentration in animals

Tatijana A Klimova^{1,2}, Aleksey N Sizentsov², Yaroslav A Sizentsov², Ilmira Z Gubaidullina¹

¹Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (Orenburg, Russia)

²Orenburg State University (Orenburg, Russia)

Summary. The article presents the results of experimental studies on the effective use of *Bacillus* probiotic strains of animals with copper deficiency (for example, rats). *Bacillus* bacteria: Vetom 2 (*B. subtilis* 7048 strain and *B. licheniformis* 7038 strain) and Sporobacterin (*B. subtilis* 534 strain) were used as a probiotic agent. $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, which creates high element concentrations in nutrient substrate, acted as a regulatory factor for the excess concentration of copper ions in the experiment. The effectiveness of use of the obtained biologically active compounds was evaluated using atomic absorption spectrophotometry; skin, muscle and bone tissue were used as biological samples. The obtained data indicate a high potential for the use of probiotic drugs, which can stimulate the accumulation of copper in the body. So, in the samples of the experimental groups, the concentration of the test element exceeded the control group with a low copper content in the diet by 98.61%, 108.33%, and 81.94% at the end of the study. Based on the assessment of the level of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline

phosphatase in blood serum, there was no pathological effect of the tested compounds on hepatocytes, as evidenced by the dynamics of the studied parameters within the reference values throughout the experiment.

Key words: animals, rats, feeding, copper, probiotic preparations, bacteria of *Bacillus* genus, mineral deficiency states.

Введение.

Микроэлементы являются необходимыми питательными веществами для каждой живой клетки организма человека. В настоящее время в организме человека и животных обнаружено порядка 80 химических элементов, при этом все они в той или иной степени участвуют в процессах жизнедеятельности. По содержанию в организме элементы делятся на макроэлементы (O, H, C, N, K, Mg, Fe, Na, Ca, S, Cl, P, I, Si, F), микроэлементы и ультрамикроэлементы (Fe, Zn, Cu, Mn, Se, V, Ni, Cr, Sn, Mo и др). Они необходимы для баланса жидкости, развития крови и костей, поддержания здоровой нервной системы и регулирования мышц, включая сердечные мышцы. Они участвуют во всех ферментных реакциях в организме и помогают в усвоении и использовании витаминов и других питательных веществ. Организм человека требует разных количеств каждого минерала, чтобы оставаться здоровым. Конкретные потребности указаны в рекомендуемых суточных нормах питания (Скальный А.В., 2016).

Дефицит минералов или минеральная недостаточность в организме человека и животных ведёт к снижению биологического потенциала и развитию патологических состояний, некоторые из которых приводят к летальному исходу. Развитие дефицитных состояний может возникать вследствие геохимической характеристики территории (дефицитные состояния и избыточное содержание элементов-антагонистов) и несбалансированного питания (Безлер Ж.А., 2009).

Медь является эссенциальным микроэлементом, участвующим во многих ферментных реакциях. Признаки дефицита меди могут включать анемию, диарею, слабость, плохую дыхательную функцию, облысение, кожные раны и повышенный уровень липидов в крови (Waihung Lo et al., 2003).

Своевременное выявление и купирование нарушений обмена меди, позволит на практике реализовать персонализированный подход к профилактике и лечению многих заболеваний. Обеспечение адекватного потребления основных питательных веществ посредством сбалансированной диеты и добавок – лучший способ предотвратить дефицит минералов (Парахонский А.П., 2015).

В настоящий момент существует огромное количество препаратов, биологически активных добавок по восстановлению дисбаланса меди, нами предлагается исследование возможности восполнения дефицита меди с помощью пробиотических штаммов. Выбор пробиотических штаммов связан с возможностью бактерии рода *Bacillus* накапливать ионы металлов (Sizentsov AN et al., 2018). Это может использоваться в регуляции элементного статуса организма животных и человека при включении в рацион пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* (Sizentsov AN et al., 2019; Khanafari A et al., 2008).

Цель исследования.

Установить влияние пробиотических штаммов рода *Bacillus* на биохимические показатели крови животных на фоне медьдефицитного рациона.

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Пробиотические штаммы: *B. subtilis* 10643 и *B. licheniformis* 10642 («Ветом 2»), производитель препарата – НПФ «Исследовательский центр» ООО (Россия), *B. subtilis* 534 («Споробактерин», производитель препарата – Бакорен, (Россия).

Крысы линии Wistar в количестве 120 голов.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями Russian Regulations, 1987 (Order No. 755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) and «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy

Press Washington. D.C. 1996). При выполнении исследований были предприняты усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшения количества образцов.

Схема эксперимента.

Схема эксперимента представлена в таблицах 1, 2. В качестве источника меди – сульфат меди ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$).

Таблица 1. Порядок приготовления препарата

Table 1. Drug preparation procedure

Соли металлов/ Metal salts		Исследуемые концентрации, ммоль/мл/ The studied concentration, mmol / ml	Пробиотические споробразующие штаммы <i>Bacillus</i> / Probiotic spore-forming strains of <i>Bacillus</i>
Катион /Cation	Анион/ Anion		
Cu	SO ₄	от 1 до 0,00125/ from 1 to 0.00125	<i>B. subtilis</i> ВКПМ В 7048, <i>B. licheniformis</i> ВКПМ В 7038 <i>B. subtilis</i> 534
	(CH ₃ COO) ₂		
	Cl ₂		
1		2	
Оценка биотоксичности исследуемых химических соединений меди в отношении изучаемых микроорганизмов/ Assessment of biotoxicity of the studied chemical compounds of copper in relation to the studied microorganisms			
Определение МПК солей металлов/ Determination of MIC of metal salts		Использовался диффузионный метод агаровых лунок, который совмещает в своей структуре два метода: метод лунок в агаровом слое и серийных разведений, данная методика является не только качественной, но и количественной оценкой биотоксичности исследуемых химических соединений (получение рабочей концентрации солей, не оказывающих ингибирующего действия на рост исследуемых микроорганизмов)./The diffusion method of agar wells was used, it combines two methods in its structure: the method of wells in agar layer and serial dilutions; this method is not only a qualitative, but also a quantitative assessment of the biotoxicity of the studied chemical compounds (obtaining a working concentration of salts that do not have inhibitory effect on growth of the studied microorganisms).	
Оценка влияния металлов на рост тест-организмов в периодической культуре/ Assessment of the influence of metals on growth of test organisms in discontinuous culture		Оценку влияния металлов на рост изучаемых микроорганизмов и срок наступления фазы М концентрации роста осуществляли путём замера оптической плотности (OD) бактериальной суспензии с интервалом в три часа, начиная с фонового исследования, и продолжали до получения трёх идентичных значений (необходимо для определения времени отбора биомассы с максимальными концентрациями аккумулируемой меди)./The influence of metals on growth of the studied microorganisms and the period of the onset of phase M of growth concentration were assessed by measuring the optical density (OD) of bacterial suspension with an interval of three hours, starting from the background study, and continued until three identical values were obtained (necessary to determine time of biomass extraction with maximum concentrations of accumulated copper).	
Оценка биоаккумулятивных характеристик тест-организмов/ Evaluation of bioaccumulative characteristics of test organisms		Нами использовался атомно-абсорбционный метод, основанный на свойстве атомов химических элементов, формирующихся при распылении зольных растворов в пламя ацетилен-воздух, поглощать свет определённой длины волны (определение меди в биомассе микроорганизмов)./ We used the atomic absorption method, based on the property of atoms of chemical elements that are formed by spraying ash solutions into an acetylene-air flame, to absorb light of a certain wavelength (determination of copper in biomass of microorganisms).	

Продолжение таблицы 1

1	2
Получение инактивированной биомассы с биодоступными соединениями меди / Obtaining inactivated bio-mass with bioavailable copper compounds	К жидкой питательной среде в объёме 400 мл добавляли соли металла в рабочих концентрациях и суспензию суточной культуры 1×10^9 КОЕ/мл исследуемого микроорганизма в концентрации 4 мл с последующим культивированием в течение 24 часов при температуре +37 °С. Биомассу отделяли от супернатанта центрифугированием при 3000 об./мин в течение 10 минут с последующим удалением надосадочной жидкости. Полученную биомассу инактивировали автоклавированием в течение 40 минут. /Metal salts in working concentrations and a daily culture suspension of 1×10^9 CFU/ml of the studied microorganism at a concentration of 4 ml were added to a 400 ml liquid nutrient medium, followed by cultivation for 24 hours at a temperature of +37 °C. The biomass was separated from the supernatant by centrifugation at 3000 rpm for 10 minutes followed by removal of the supernatant. The resulting biomass was inactivated by autoclaving for 40 minutes.

Таблица 2. Схема проведения экспериментальных исследований

Table 2. Scheme of experimental studies

1 этап – проведения экспериментальных исследований / Stage 1 – experimental research					
	Доза введения, мг/кг / Dose, mg/kg	Контроль / Control	<i>B. subtilis</i> ВКПМ В 7048	<i>B. licheniformis</i> ВКПМ В 7038	<i>B. subtilis</i> 534
Интактная группа* / Intact group*	–	K ₂ (n = 24)	–	–	–
Контроль** / Control**	–	K ₁ (n = 24)	–	–	–
CuSO ₄ **	0,04	–	O ₁ (n = 24)***	O ₂ (n = 24)***	O ₃ (n = 24)***
Оценка эффективности применения препаратов-кандидатов для коррекции медьдефицитных состояний на основе пробиотических штаммов микроорганизмов / Evaluation of effective use of candidate drugs for the correction of copper deficiency conditions based on probiotic strains of microorganisms					
1	2				
Исследование гематологических, биохимических показателей крови и показателей неспецифического иммунитета сыворотки крови **** / Study of hematological, biochemical blood indices and indicators of non-specific immunity of blood serum****	Гематологические (эритроциты, гемоглобин, скорость оседания эритроцитов, лейкоцитарный профиль) и биохимические (сахар, холестерин, мочеви́на, общий белок, АЛТ, АСТ, билирубин, креатинин, щелочная фосфатаза) показатели. Показатели неспецифического иммунитета (лизоцимная и β-литическая активность сыворотки крови) / Hematological (erythrocytes, hemoglobin, erythrocyte sedimentation rate, leukocyte profile) and biochemical (sugar, cholesterol, urea, total protein, ALT, AST, bilirubin, creatinine, alkaline phosphatase) indicators. Indicators of nonspecific immunity (lysozyme and β-lytic activity of blood serum).				
Гистологическое исследование органов-мишеней**** / Histological examination of target organs ****	В качестве органов-мишеней нами выбраны селезёнка и печень, в связи с тем, что они более подвержены воздействиям тяжёлых металлов. / We have chosen spleen and liver as target organs, due to the fact that they are more susceptible to heavy metals.				

Продолжение таблицы 2

1	2
<p>Определение содержания исследуемых металлов в тканях экспериментальных животных**** /Determination of the content of the studied metals in the tissues of experimental animals ****</p>	<p>Результативность применения пробиотических штаммов осуществлялась с использованием атомно-адсорбционной спектрофотометрии («Формула ФМ 400», Россия). В качестве биологического материала исследования нами использовались кожный покров, мышечная и костная ткани в количестве 5 г каждого из исследуемых образцов./ The effectiveness of the use of probiotic strains was carried out using atomic adsorption spectrophotometry (Formula FM 400, Russia). We used skin, muscle and bone tissue as the biological material of the study in an amount of 5 g of each of the studied samples.</p>
<p>Примечание: * – животные находились на рационе (ГОСТ Р 50258-92) в соответствии правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ Р 51000.3-96 и Р 51000.4-96). ** – животные находились на минералдефицитной диете, суточный рацион состоял из дистиллированной воды и отваренного в течение 15 минут полированного риса с последующей промывкой дистиллированной водой *** – пероральное введение препарата с первого по 10 день эксперимента **** – отбор исследуемых образцов проводился с интервалом в 5 суток (фоновое исследование, 5, 10 и 15 день эксперимента). / Note: * - the animals were on the diet (GOST R 50258-92) in accordance with the rules of laboratory practice for preclinical studies in the Russian Federation (GOST R 51000.3-96 and R 51000.4-96). ** - the animals were on a mineral-deficient diet, the daily diet consisted of distilled water and polished rice boiled for 15 minutes, followed by washing with distilled water *** - oral administration of the drug from the first to the 10th day of the experiment **** - sampling was carried out with an interval of 5 days (background study, 5, 10 and 15 days of the experiment).</p>	

Полученную инактивированную биомассу пробиотических штаммов перед применением разводили дистиллированной водой в соотношении 1:2 и вводили в организм из расчёта 0,04 мг/кг массы тела животного.

На 5,10, 15 сутки исследований проводился убой крыс под эфирным наркозом, с последующим формированием проб (костная, кожный покров, мышечная ткань).

Оборудование и технические средства. Биохимические исследования сыворотки крови проводились на автоматическом анализаторе CS-T240 («DIRUI Industrial Co., Ltd», Китай) с использованием коммерческих наборов для ветеринарии ДиаВетТест (Россия) и Randox Laboratories Limited (United Kingdom).

Статистическая обработка. Статистический анализ проводили с помощью офисного программного комплекса «Microsoft Office» с применением программы «Excel» («Microsoft», США) с обработкой данных «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США). Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием t-критерия Стьюдента (Лакин Г.Ф., 1990).

Результаты исследования.

В ходе исследования установлено максимальное содержание меди в группе О₂ в мышечной ткани по сравнению с контрольной группой К₁ на 44,4 % (P≤0,05). Минимальные значения содержания меди установлены в кожном покрове в группе О₃ на 15 день исследования по сравнению с контролем на 38,8 % (P≤0,05) (рис. 1).

Содержание животных на минералдефицитной диете в течение 20 дней снижало содержание меди в исследуемых тканях на 22,58 % по отношению к группе интактных животных.

Включение в рацион крыс пробиотических штаммов стимулирует увеличение концентрации меди во всех опытных группах в мышечной ткани на 15 день эксперимента на 98,61 %, 108,33 %, и 81,94 % по отношению к группе К₁, и на 53,76 %, 61,29 % и 40,86 % – при сравнении с группой К₂.

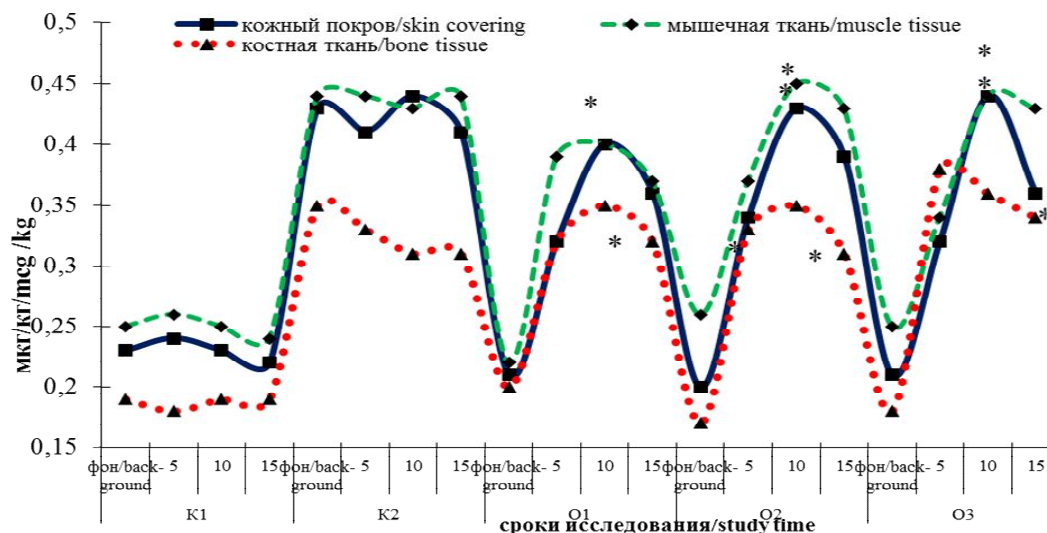


Рис. 1 - Динамика содержания меди в тканях экспериментальных животных. * – P≤0,05, ** - P≤0,01
 Figure 1 - The dynamics of copper content in the tissues of experimental animals. * – P≤0.05, ** - P≤0.01

Оценка гепатотоксического действия оцениваемых препаратов установила, что АЛТ в группе контроля дефицита (К₁) на 5, 10 и 15 дни эксперимента увеличилась на 11,5 %, 12,1 % и 13,5 % соответственно по отношению к фоновым значениям. Тогда как в опытной группе О₂ на 5 день эксперимента установлено увеличение на 1,5 % (P≤0,5) с последующим снижением на 10 и 15 дни эксперимента (рис. 2).

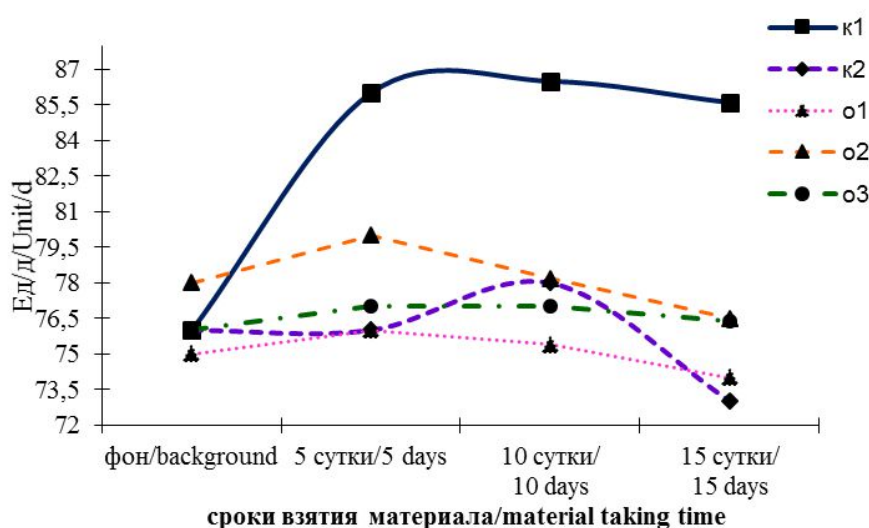


Рис. 2 - Количественные изменения аланинаминотрансферазы в крови лабораторных животных
 Figure 2 - Quantitative changes in alanine aminotransferase in blood of laboratory animals

Аналогичная динамика была характерна для АСТ в группе К₁ во все учётные периоды при сравнении с фоновыми значениями. Включение в медь дефицитный рацион *B. licheniformis* 7038

сопровождалось увеличением АСТ на 3,2 % ($P \leq 0,05$) на 10 день эксперимента, со снижением на 1,7 % ($P \leq 0,05$) в последующие периоды (рис. 3).

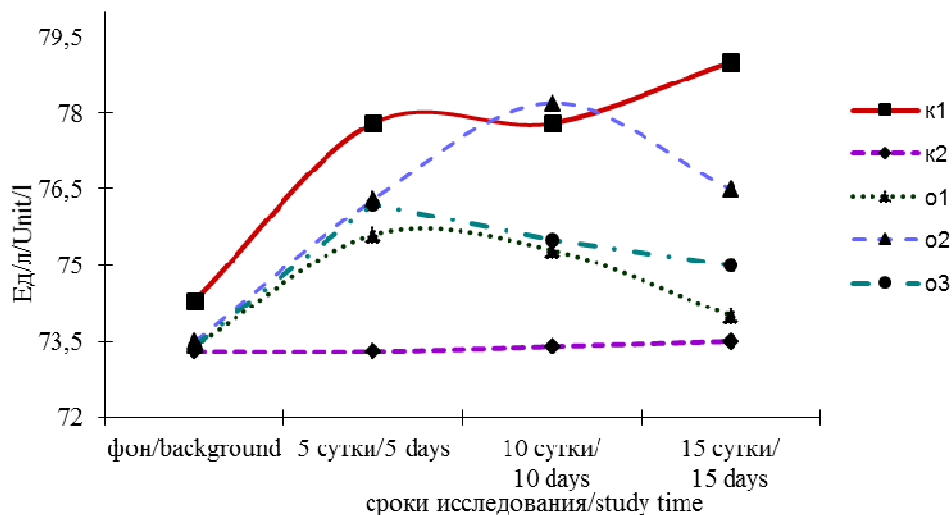


Рис. 3 – Количественные изменения аспартатаминотрансферазы в крови лабораторных животных

Figure 3 – Quantitative changes in aspartate aminotransferase in blood of laboratory animals

При исследовании щелочной фосфатазы у лабораторных животных было установлено, что применяемые препараты «Ветом 2» и «Споробактерин» не оказывают влияния на исследуемый показатель на протяжении всего эксперимента. Достоверное увеличение значения наблюдается на 5-й день исследования в группе К1 на 2,6 % ($P \leq 0,01$) и на 15-й день эксперимента увеличение на 0,8 % ($P \leq 0,05$) (рис. 4).

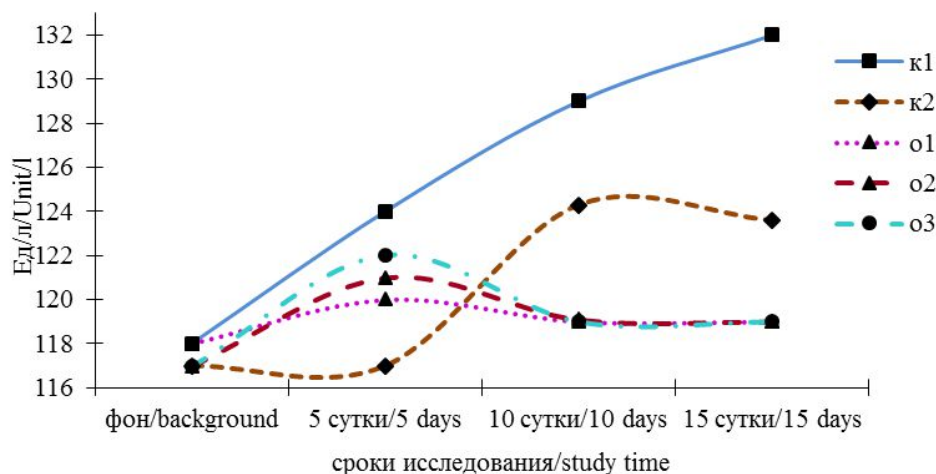


Рис. 4 – Количественные изменения щелочной фосфатазы в крови лабораторных животных

Figure 4 – Quantitative changes in alkaline phosphatase in blood of laboratory animals

Обсуждение полученных результатов.

Исследуемые нами пробиотические штаммы были выбраны, исходя из способности бактерий рода *Bacillus* извлекать и аккумулировать ионы металлов. Их аккумуляция может осуществляться в два этапа (сорбция компонентами клеточной стенки и энергозависимое внутриклеточное накопление). В статье представлены результаты о возможности использования пробиотических штаммов в качестве стимуляторов всасывания меди в организм. Как уже говорилось ранее, бактерии рода *Bacillus* инактивируют, тем самым они не могут аккумулировать металлы, но могут осуществлять доставку микроэлементов в ткани компонентами клеточной стенки. Тем более пробиотики могут при дефицитных состояниях увеличить эндогенные потери за счёт вытеснения из депо меди и перераспределения его по органам и тканям.

Применение пробиотиков позволяет увеличить концентрацию меди на 15 день эксперимента на 98,61 %, 108,33 % и 81,94 % (группа О₁, О₂, О₃) по отношению к группе контроля дефицитного состояния, и на 53,76 %, 61,29 % и 40,86 % – по отношению к группе интактных животных. При этом наиболее перспективными штаммами для создания биологически активных медьсодержащих препаратов являются *B. licheniformis* 7038 и *B. subtilis* 7048.

Ранее нами уже были получены данные по повышению содержания железа в организме животных. Получаемый комплекс «инактивированный штам+металл (медь)» позволяет создать в организме значительный запас меди (Климова Т.А. и др., 2019).

Результаты биохимического исследования сыворотки крови свидетельствуют о незначительном увеличении показателей на 5 день эксперимента. Возможно, данное явление может быть обусловлено адаптационными механизмами организма лабораторных животных, вызванными высокими концентрациями исследуемого элемента в биодоступной форме и отсутствием токсичности. Подтверждением гипотезы адаптации организма является снижение концентрации всех исследуемых показателей до значений группы интактных животных уже на 10 сутки эксперимента (Скальный А.В., 2016).

Выводы.

Резюмируя полученные результаты в экспериментах *in vivo*, следует отметить возможность использования пробиотических штаммов микроорганизмов в качестве механизма коррекции медь-дефицитных состояний.

Результаты биохимического исследования крови экспериментальных животных с целью оценки гепатотоксического действия исследуемых пробиотических препаратов на организм лабораторных животных свидетельствуют об отсутствии негативного влияния на организм на протяжении всего срока проведения эксперимента.

Таким образом, в качестве возможных вариантов регуляции элементного статуса организма животных является использование пробиотических препаратов на основе продуктов жизнедеятельности представителей транзитной микрофлоры с высокими сорбционными характеристиками.

Исследования выполнены при поддержке Областного гранта № 21 от 14.08.2019 года.

Литература

1. Безлер Ж.А. Дефицит витаминов и минералов у детей: современные методы профилактики: учеб.-метод. пособие. Минск: БГМУ, 2009. 66 с. [Bezler ZhA. Defitsit vitaminov i mineralov u detei: sovremennye metody profilaktiki: ucheb.-metod. posobie. Minsk: BGMU; 2009:66 p. (In Russ)].
2. Изучение взаимосвязи биоаккумуляции цинка в продуктах питания и организме человека на территории Оренбургской области / А.В. Скальный, Е.В. Сальникова, О.В. Кван, А.Н. Сизенцов, И.А. Сальников // Вестник Оренбургского государственного университета. 2016. № 10. С. 79-81. [Skalny AV, Salnikova EV, Kwan OV, Sizensov AN., Salnikov IA. Examine the relationship of zinc bioaccumulation in food and human organism in the Orenburg region. Vestnik of the Orenburg State University. 2016;10:79-81. (In Russ)].

3. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие. М.: Высш. шк., 1990. 352 с. [Lakin GF. Biometriya: ucheb. posobie. Moscow: Vysshaya shkola; 1990:352 p. (In Russ)].
4. Парахонский А.П. Роль меди в организме и значение её дисбаланса // Естественно-гуманитарные исследования. 2015. № 4(10). С. 72-83. [Parakhonskii AP. The role of copper in the body and the importance of its imbalances. Natural Humanitarian Studies. 2015;4(10):72-83. (In Russ)].
5. Способ повышения содержания железа в организме животных: пат. 2676687 Рос. Федерация / Т.А. Климова, Е.С. Барышева, А.Н. Сизенцов, А.В. Быков, О.В. Кван. Заявл. 07.03.18; опубл. 10.01.19, Бул. № 1. [Klimova TA, Barysheva ES, Sizensov AN, Bykov AV, Kvan OV. Sposob povysheniya soderzhaniya zheleza v organizme zhiivotnykh: pat. 2676687 Ros. Federatsiya. Zayavl. 07.03.18; opubl. 10.01.19, Byul. № 1. (In Russ)].
6. Khanafari A, Mashinchian AM, Eshghdoost S. Removal of Lead and Chromium from Aqueous Solution by *Bacillus circulans* biofilm. Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering. 2008;5(3):195-200.
7. Sizensov AN, Karpova GV, Klimova TA, Salnikova EV, Kvan OV, Barysheva ES, Gavrish I. Evaluation of anionic components of lead on biotoxicity and bioaccumulation ability in respect of probiotic stamps. International Journal of GEOMATE. 2019;16(55):8-13. doi: <https://doi.org/10.21660/2019.55.76923>
8. Sizensov AN, Klimova TA, Karpova GV, Kvan OV, Barysheva ES, et al. Perspectives of genus *Bacillus*-based probiotic strain application in the correction of copper-deficient states. International Journal of Mechanical Engineering and Technology (IJMET). 2018;9(11):161-171.
9. Waihung Lo, Lau Mei Ng, Hong Chua, Peter HFYu, et al. Biosorption and desorption of copper (II) ions by *Bacillus sp.* Applied Biochemistry and Biotechnology. 2003;107(1-3):581-591. doi: <https://doi.org/10.1385/ABAB:107:1-3:581>

References

1. Bezler ZhA. Deficiency of vitamins and minerals in children: modern methods of prevention: textbook.-method. allowance. Minsk: BGMU; 2009:66 p.
2. Skalny AV, Salnikova EV, Kwan OV, Sizensov AN., Salnikov IA. Examine the relationship of zinc bioaccumulation in food and human organism in the Orenburg region. Vestnik of the Orenburg State University. 2016;10:79-81.
3. Lakin GF. Biometry: textbook. allowance. Moscow: Vysshaya shkola; 1990:352 p.
4. Parakhonskii AP. The role of copper in the body and the importance of its imbalances. Natural Humanitarian Studies. 2015;4(10):72-83.
5. Klimova TA, Barysheva ES, Sizensov AN, Bykov AV, Kvan OV. A method of increasing iron content in animals: US Pat. 2676687 Ros. Federation. Appl. 07.03.18; published as of 10.01.19, Byul. № 1.
6. Khanafari A, Mashinchian AM, Eshghdoost S. Removal of Lead and Chromium from Aqueous Solution by *Bacillus circulans* biofilm. Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering. 2008;5(3):195-200.
7. Sizensov AN, Karpova GV, Klimova TA, Salnikova EV, Kvan OV, Barysheva ES, Gavrish I. Evaluation of anionic components of lead on biotoxicity and bioaccumulation ability in respect of probiotic stamps. International Journal of GEOMATE. 2019;16(55):8-13. doi: <https://doi.org/10.21660/2019.55.76923>
8. Sizensov AN, Klimova TA, Karpova GV, Kvan OV, Barysheva ES, et al. Perspectives of genus *Bacillus*-based probiotic strain application in the correction of copper-deficient states. International Journal of Mechanical Engineering and Technology (IJMET). 2018;9(11):161-171.
9. Waihung Lo, Lau Mei Ng, Hong Chua, Peter HFYu, et al. Biosorption and desorption of copper (II) ions by *Bacillus sp.* Applied Biochemistry and Biotechnology. 2003;107(1-3):581-591. doi: <https://doi.org/10.1385/ABAB:107:1-3:581>

Климова Татьяна Андреевна, специалист-техник Испытательного центра ЦКП, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29; аспирант, Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы 13; тел.: +79878494166, e-mail: klimovat91@mail.ru

Сизенцов Алексей Николаевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и микробиологии, Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы 13, тел.: +79058803604, e-mail: asizen@mail.ru

Сизенцов Ярослав Алексеевич, студент, Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы 13, тел.: +79058803604, e-mail: asizen@mail.ru

Губайдуллина Ильмира Закиевна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний и экспертиз, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: +79128431069, e-mail: gubaidullinae@mail.ru

Поступила в редакцию 13 декабря 2019 г.; принята после решения редколлегии 16 декабря 2019 г.; опубликована 31 декабря 2019 г. / Received: 13 December 2019; Accepted: 16 December 2019; Published: 31 December 2019