

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ІВАНА ПУЛЮЯ
(Україна)
МОГИЛЬОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ПРОДОВОЛЬСТВА
(м. Могильов, Республіка Білорусь)
ПОЛЬСЬКА АКАДЕМІЯ ЗДОРОВ'Я
(м. Жешув, Республіка Польща)
ПРИРОДНИЧИЙ УНІВЕРСИТЕТ
(м. Люблін, Республіка Польща)
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ ІМ. С.З. ГЖИЦЬКОГО
(Україна)
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ОБЛАСНА ОРГАНІЗАЦІЯ УКРАЇНСЬКОГО СОЮЗУ
НАУКОВО-ТЕХНІЧНОЇ ІНТЕЛІГЕНЦІЇ
(Україна)

Міжнародна науково-технічна конференція
СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ ХАРЧОВОЇ НАУКИ ТА
ПРОМИСЛОВОСТІ

Тези доповідей

8-9 жовтня 2015 р.

Тернопіль

2015

УДК 001 + 664
ББК 72
С76

ПРОГРАМНИЙ КОМІТЕТ

Голова

П.Ясній - д.т.н., професор, ректор ТНТУ імені І.Пулюя

Заступник голови

Р.Рогатинський - д.т.н., професор, проректор з наукової роботи ТНТУ імені І.Пулюя

Члени програмного комітету

Покотило О.	Україна
Юкало В.	Україна
Кухтин М.	Україна
Луговий Б.	Канада
Вітенько Т.	Україна
J. Zięba	Польща
Мельничук С.	Україна
J. Napus	Польща
Шингарьова Т.	Білорусія
Арсеньєва Л.	Україна
Цісарик О.	Україна
Скапцов А.	Білорусія

Меценати конференції:

- Чайківський І.А. – Корпорація «Агропродсервіс»;
- Крижовачук О.П. – ТОВ «Україна»;
- Романенко А.А. – ДП «Дінтер Україна Скала»;
- Собуцький О.М., Коваль О.Є. – ТОВ «Агробізнес»;
- Будь А.І. – ПП «Агроспецгосп»;
- Мамай О.В. – ПАТ «ТерА»;
- Джоджик Я.І. – ТОВ «Опілля»

С76 Стан і перспективи харчової науки та промисловості : матеріали міжнародної науково-технічної конференції. Тези доповідей (Тернопіль 8-9 жовтня 2015 року) / МОН України, ТНТУ імені Івана Пулюя – Тернопіль : Вид-во ТНТУ імені Івана Пулюя, 2015.- с.

УДК 001 + 664

ББК 72

УДК 637.136.3:579.234.016:577.152

Наталія Черно, Антоніна Капустян, Анастасія Черная
Одесская национальная академия пищевых технологий, Украина**ПОЛУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ
КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ПОЛИВИДОВОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ
ЗАКВАСКИ ФЕРМЕНТАТИВНЫМ СПОСОБОМ**Nataliya Chernoy, Antonina Kapustyan, Anastasia Chernaya
**THE BIOLOGICALLY ACTIVE COMPONENTS OBTAINING
FROM CELL WALLS OF POLYSPECIFIC BACTERIAL
STARTER BY ENZYMATIC METHOD**

Роль молочнокислых бактерий в питании значительна и разнообразна. Их использование в качестве компонентов пробиотических диетических добавок позволяет восстановить здоровый пищеварительный процесс и стабилизировать состояние иммунной системы. За иммуностропные свойства молочнокислых бактерий отвечают минимальные структурные фрагменты пептидогликанов клеточных стенок – мурамилдипептиды (МДП).

Использование целых микробных клеток в качестве пробиотиков и иммуностропных агентов часто является малоэффективным, поскольку они подвергаются агрессивному воздействию сред пищеварительного тракта. Расщепление мембран клеточных стенок молочнокислых бактерий в процессе пищеварения является непредсказуемым и хаотичным, что не позволяет получить регулярные продукты деградации пептидогликанов из целых микробных клеток – МДП и его производных.

МДП распознается внутриклеточными Nod 2 подобными рецепторами организма хозяина и инициирует сигнальный каскад реакций, приводящий к синтезу иммунокомпетентными клетками провоспалительных цитокинов и активации механизмов иммунологической защиты организма.

Мурамилпептиды постоянно попадают в организм животных и человека в результате деградации клеточных стенок бактерий и содержатся во многих тканях в малых концентрациях оказывая различные нейро- и иммунорегуляторные эффекты. Экзогенное введение производных МДП воспроизводит физиологические и эволюционно закрепленные механизмы модуляции иммунного ответа.

Использование препаратов из целых бактерий для стимуляции фагоцитарного иммунитета малоэффективно. Это связано с тем, что при вторичных иммунодефицитах функциональная активность макрофагов понижена и, следовательно, понижена способность расщеплять пептидогликаны бактерий с образованием иммуностропных веществ мурамилпептидного ряда. В связи с этим актуально использование фрагментов клеточных стенок бактерий – пептидов с молекулярной массой 1000 – 1500 Да, обладающих иммуностропной активностью.

Для получения таких препаратов использовали в качестве субстрата поливидовую закваску молочнокислых бактерий, представляющей собой сумму тест культур *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus*.

Фрагментацию поливидовой закваски осуществляли посредством ферментативного гидролиза. В качестве гидролизующих агентов применяли лизоцим активностью 46000 Ед и панкреати с протеолитической активностью 370 Ед.

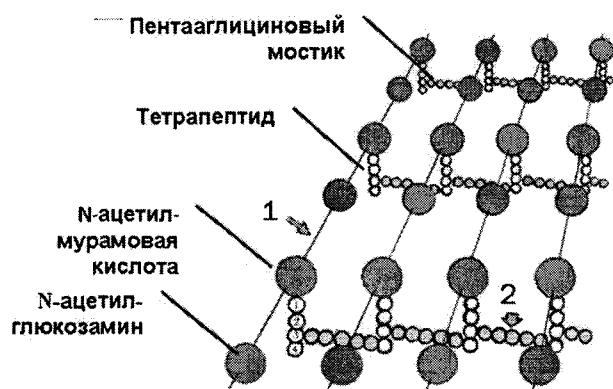


Рис. 2. Схематическое изображение ферментативного гидролиза пептидогликанов:

1 – направление действия лизоцима; 2 – направление действия протеаз

Постоянными параметрами гидролиза были температура (36 – 37 °С) и рН среды (7,0 – 8,0). Эффективность гидролиза оценивали по накоплению в ферментализате низкомолекулярных продуктов – аминокислот и низкомолекулярных пептидов (НМП) с $MM < 1500$ Да.

Аминокислоты определяли методом формольного титрования, пептиды – спектрофотометрически с реактивом Бенедикта после осаждения высокомолекулярных белков 5 % раствором трихлоруксусной кислоты. На начальном этапе исследований изучали влияние предварительной тепловой обработки БМ на выход НМП при инкубации биомассы с панкреатином в течение 24 час (при соотношении фермент : субстрат 1:100).

Установлено, что максимальное содержание НМП в ферментализате с применением предварительного нагревания до 100 °С и без него достигается после 2 часов гидролиза. Содержание НМП в ферментализате с применением предварительного нагревания составляет 1,2 г/100 мл, что на 9 % выше, чем содержание НМП в ферментализате без применением предварительного нагревания.

Исследована зависимость накопления НМП в ферментализате от концентрации панкреатина, которую варьировали в интервале 0,5 – 14 мг/мл. Максимальное количество НМП в ферментализате 0,96 г/100 мл достигается при концентрации фермента 5 – 10 мг/мл.

Для изучения эффективности гидролиза использовали также композицию гидролаз панкреатин-лизоцим. Установлено, что использование лизоцима совместно с панкреатином значительно интенсифицирует процесс гидролиза. Так, максимальное накопление НМП в ферментализате с использованием композиции ферментов достигается через 1 час инкубации и составляет 0,92 г/100 мл, с использованием только панкреатина – через 2 часа и составляет 0,71 г/100 мл, что на 23 % ниже.

Таким образом, использование ферментативного гидролиза поливидовой закваски молочнокислых бактерий позволяет получить целевые низкомолекулярный продукты – аминокислоты, пептиды. Рациональными условиями проведения гидролиза является длительность инкубации фермента с субстратом в течении 2 – 3 часов при концентрации панкреатина 5 – 10 мг/мл. Более эффективной является обработка молочнокислых бактерий ферментной композицией трипсин-лизоцим, которая приводит к более высокому накоплению низкомолекулярных продуктов, обладающих иммуностропной активностью.

Первый катализирует разрыв пептидных связей, которые соединяют остатки мурамовой кислоты в составе пептидогликанов клеточных стенок, второй – катализирует разрыв β -(1→4) гликозидных связей между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой.

Для определения рациональных условий ферментативного гидролиза биомассы (БМ) установлена зависимость накопления низкомолекулярных продуктов гидролиза от его продолжительности, природы и от концентрации ферментов в реакционной смеси.