

**Н.К. Черно**, д-р техн. наук, проф. (ОНАИТ, Одесса)

**А.И. Капустян**, канд. техн. наук, ст. преп. (ОНАИТ, Одесса)

**А.В. Черная**, магистрант (ОНАИТ, Одесса)

## **КОМБИНИРОВАННЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ ИММУНОТРОПНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПЕПТИДОГЛИКАНОВ КЛЕТОЧНЫХ СТенок БАКТЕРИЙ**

Приоритетным направлением развития современного общества является принятие необходимых мер для обеспечения здоровья населения на должном уровне. В Европе проведены масштабные исследования состояния здоровья населения, результаты которых демонстрируют значительное ухудшение здоровья у молодежи. Одной из причин ухудшения здоровья и преждевременного старения населения является низкий уровень иммунитета. Человек с диагнозом «пониженный иммунитет» более уязвим к простудным заболеваниям, аллергии, аутоиммунным заболеваниям.

Одним из путей преодоления таких проблем является введение в рацион пищевых продуктов с содержанием функциональных иммуностропных ингредиентов. Среди таких особого внимания заслуживают компоненты пептидогликанов клеточных стенок бактерий – мурамилдипептид (МДП) и его производные. МДП обладает способностью стимулировать антиинфекционную резистентности, противоопухолевый иммунитет, активировать системы врожденного и приобретенного иммунитета. МДП инициирует сигнальный каскад реакций, приводит к синтезу иммунокомпетентными клетками цитокинов и активации механизмов иммунологической защиты организма.

Целью работы было получение веществ мурамилпептидного ряда – низкомолекулярных пептидов (НМП) клеточных стенок молочнокислых бактерий комбинированным способом с применением предварительной дезинтеграции физическими методами с последующей обработкой ферментами, разрушающими специфические связи в структуре пептидогликанов.

Объект исследования – поливидовая композиция молочнокислых бактерий, представляющая собой сумму тест культур: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus*.

В качестве физических дезинтегрирующих факторов использовали обработку биомассы при следующих интервалах температур (–12...–15° С), (80...100° С), и обработку с использованием СВЧ-излучения.

Ферментативную фрагментацию осуществляли после физической дезинтеграции клеток посредством использования панкреатина (с протеолитической активностью 370 Ед) и лизоцима (активностью 46000 Ед). Выбор данных ферментных препаратов обусловлен их специфической каталитической активностью. Первый – катализирует разрыв пептидных связей, которые соединяют остатки мурамовой кислоты в составе пептидогликанов, второй – катализирует разрыв  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) гликозидных связей между N-ацетилглюкозамином и N-ацетил-мурамовой кислотой. Постоянными параметрами гидролиза были температура (36–37° С) и рН среды (7,0–8,0). Ранее было установлено, что максимальное количество НМП в ферментоллизате 0,96 г/100 мл достигается при концентрации фермента 5 – 0 мг/мл.

Эффективность гидролиза оценивали по накоплению в ферментоллизате низкомолекулярных продуктов – аминокислот и низкомолекулярных пептидов (НМП) с ММ < 1500 Да.

При предварительной инкубации биомассы до ферментативной обработки в течение 24 ч при температуре –14° С – выход НМП увеличился на 17,2% по сравнению с опытом без применения физических факторов дезинтеграции; при инкубации в интервале 80–100° С в течение 15 мин – на 21,3%; при обработке образца СВЧ излучением – на 35,1%.

Изучен качественный состав фракции НМП. Для определения молекулярно-массового распределения продуктов гидролиза использовали гель-хроматографию на колонке с сефадексом G-15, которая позволяет разделять молекулярные фракции в диапазоне 50–1500 Да. Содержание пептидов во фракциях определяли с помощью спектрофотометрических методов анализа (метод Луори, с применением биуретового реактива и нингидриновая реакция). Результаты исследований позволяют констатировать, что в составе гидролизата присутствуют пептиды с молекулярной массой в диапазоне, соответствующему молекулярной массе целевого иммунотропного продукта – МДП (520 Да).

Таким образом, разработан комбинированный способ разрушения клеточных стенок поливидовой закваски молочнокислых бактерий, путем ферментативного гидролиза комбинации молочнокислых бактерий с применением предварительного физического воздействия. Доказано наличие в составе гидролизата биомассы целевых биологически активных веществ – пептидов с молекулярной массой до 1500 Да.