

- 1990.–220 с.
- А.с. 765832 СССР МКЛЗ А23 J 1/06. Способ производства пищевого полуфабриката из цельной крови убойных животных [Текст] /Т.Л. Корчагина, В.М. Киселев, Т.М. Шухова (СССР). – № 467 Б 934 / 13; заявл. 27.01.89; опубл. 30.04.89, Бюл. № 17.
 - Жаринов, А.И. Полифункциональное использование плазмы крови и белоксодержащих систем на её основе в технологии мясопродуктов: дис. ... на соискание ученой степени д-р техн. наук [Текст] /А.И. Жаринов. – М., 1991. – 498 с.
 - «Гемобин» – противоанемическая биологически активная добавка нового поколения [Текст] /С.Л. Люблинский, И.Н. Люблинская, С.И. Черняев, М.В. Марков //Молочная промышленность. – 2004. – № 5. – С. 5–8.
 - Файвишевский, М.Л. Экстругем – новый продукт антианемического действия [Текст] /М.Л. Файвишевский, Т.М. Лисина //Мясная промышленность. – 1994. – № 2. – С. 23–24.
 - Чернуха, И.М. Мясные продукты направленного действия [Текст] /И.М. Чернуха //Мясная индустрия. – 2009. – № 2. – С. 17–19.
 - Pickering, T.G. New quldelines on diet and blood pressure [Text] /T.G. Pickering //Hypertension. – 2006. – № 47. – р. 135–136.
 - Улицкий, З.З. Мясне продукты оздоровительного направления [Текст]/З.З. Улицкий//Мясное дело.–2009.– № 7.– С. 24–25.
 - Тутельян, В.А. Микроэлементы в питании здорового и больного человека [Текст] /В.А. Тутельян, Б.П. Суханов, В.Б. Спиричев и др.]. – М.: Колос, 2002. – 214 с.
 - Спиричев, В.Б. Обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами. Наука и технология [Текст] /В.Б. Спиричев, Л.Н. Шатнюк, В.М. Позылковский. – Новосибирск.: Сиб. унив. изд.–во, 2004. – 185 с.
 - Огляд закордонного ринку функціональних продуктів [Текст] /Мясное дело. – 2009. – № 4. – С. 28–29.
 - Белякина, Н.Е. Медико-биологические принципы создания продуктов на мясной основе для питания при желудочно-кишечных, сердечно-сосудистых заболеваниях и ожирении [Текст] /Н.Е. Белякина, А.В. Устинова, И.К. Морозкина //Доклады 7^{ой} Междунар. науч. конф. памяти В.М. Горбачова. – М.: ВНИИМП, 2004. – С. 42–51.
 - Finch, C. Regulators of iron balans in humans [Text] / C. Finch. – Blood. – 1994. – № 84. – Р. 702–719.
 - Clominq and characterization of mammalian protein-coupled metal-ion transporter [Text] / [- Н. Gunshin, В. Mackeunzie, U. Berqer at al.]. – Nature. – 1997. – № 388/– Р. 8–22.

УДК 602.4:[577.15:577.114.4]:635.342
DOI

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ ДЛЯ НУТРИТИВНОЙ ПОДДЕРЖКИ НАСЕЛЕНИЯ С РАССТРОЙСТВАМИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

А.И. Капустян, кандидат технических наук, старший преподаватель*
E-mail: onaft_foodtechn@mail.ru
Н.К. Черно, доктор технических наук, профессор*
E-mail: cherno_n_k@mail.ru
*кафедра пищевой химии
Одесская национальная академия пищевых технологий
ул. Канатная, 112, г. Одесса, Украина, 65039

Анотація. У статті наведено дані оглядового характеру щодо імуноотропних властивостей фрагментів пептидогліканів бактеріальних клітинних стінок – мураміддипептиду (МДП) та його похідних. МДП здатен активувати системи вродженого й адаптивного імунітету, стимулювати антимікробну активність, протипухлинний імунітет, активувати імунокомпетентні клітини і індукувати синтез ряду цитокінів. Здійснено скринінг потенційних мікробних об'єктів для отримання гідролізатів з вмістом сполук мураміддипептидного ряду, аналіз існуючих препаратів на основі МДП, аналіз відомих способів отримання та методів дослідження мікробних гідролізатів. Показано, що для отримання бактеріальних гідролізатів доцільне використання різних видів мікроорганізмів, що може забезпечити отримання функціональних інгредієнтів з широким спектром біологічної активності. З метою отримання гідролізатів дезінтеграцію бактеріальних клітин доцільно проводити м'яким ферментативним способом з використанням комбінації ферментів протеолітичної (трипсин, панкреатин) і мурамідазної (лізоцим) дії. Розглянуто перспективи застосування бактеріальних гідролізатів з вмістом речовин мураміддипептидного ряду в якості функціональних імуноотропних інгредієнтів у складі дієтичних добавок і харчових продуктів.

Ключові слова: імуноотропні властивості, бактерії, гідролізати, пептидоглікани, мураміддипептиди, ферменти.

Аннотация. В статье приведены сведения обзорного характера об имуноотропных свойствах фрагментов пептидогликанов бактериальных клеточных стенок – мурамилдипептида (МДП) и его производных. МДП способен активировать системы врожденного и адаптивного иммунитета, стимулировать антимикробную активность,

противоопухолевый иммунитет, активировать иммунокомпетентные клетки и индуцировать синтез ряда цитокинов. Осуществлен скрининг потенциальных микробных объектов для получения гидролизатов с содержанием соединений мурамилпептидного ряда, анализ существующих препаратов на основе МДП, анализ известных способов получения и методов исследования микробных гидролизатов. Установлено, что для получения бактериальных гидролизатов целесообразно использование комбинации различных видов микроорганизмов, что может обеспечить получение функциональных ингредиентов с широким спектром биологической активности. С целью получения гидролизатов дезинтеграцию бактериальных клеток целесообразно проводить мягким ферментативным способом с использованием комбинации ферментов протеолитического (трипсин, панкреатин) и мурамидазного (лизоцим) действия. Рассмотрены перспективы применения бактериальных гидролизатов с содержанием веществ мурамилпептидного ряда в качестве функциональных иммуноотропных ингредиентов в составе диетических добавок и пищевых продуктов.

Ключевые слова: иммуноотропные свойства, бактерии, гидролизаты, пептидогликаны, мурамилдипептиды, ферменты.

Введение. Постановка проблемы

Современной мировой тенденцией в области пищевых технологий является разработка инновационных продуктов питания с повышенной биологической ценностью, которые способны влиять на физиологические процессы в организме человека, в том числе, стимулировать и улучшать сопротивляемость к различным заболеваниям. Для этого в состав продуктов целесообразно введение функциональных ингредиентов, обладающих определенными физиологическими эффектами. Среди многообразия таких ингредиентов, особое внимание заслуживают компоненты пептидогликанов клеточных стенок бактерий – мурамилдипептид (МДП) и его производные, которые способны стимулировать антимикробную активность, противоопухолевый иммунитет, активировать иммунокомпетентные клетки и индуцировать синтез ряда цитокинов [1-10].

Использование целых микробных клеток в качестве функциональных иммуноотропных компонентов для нутритивной поддержки населения с расстройствами иммунной системы является малоэффективным [10]. Такая активность присуща только фрагментам пептидогликанов клеточных стенок бактерий с молекулярной массой 1000 – 1500 Да [12-13].

В связи с этим целесообразной является направленная частичная деструкция бактериальных клеток, или создания синтетических аналогов МДП, с целью получения биологически активных веществ (БАВ), способных легче усваиваться и вступать в биохимические процессы, ускоряя ожидаемый иммуноотропный эффект.

Цель работы – обобщение данных о структуре, функциях МДП и его производных, осуществление скрининга потенциальных микробных объектов для получения МДП, анализ существующих препаратов на основе МДП, освещение способов получения и методов исследования микробных гидролизатов, а также рассмотрение перспективы их применения в качестве функциональных ингредиентов иммунокорректирующего действия.

Имуноотропные свойства МДП

Начало исследований, посвященных МДП и его

производным, положено еще в 1974 г. Французские исследователи под руководством Е. Lederer доказали, что именно МДП, входящий в состав клеточной стенки микобактерий, вызывает иммуностимулирующий и адьювантный эффекты, способен активировать системы врожденного и адаптивного иммунитета [6-9].

МДП представляет собой минимальную структурную единицу пептидогликана (рис. 1), входящего в состав клеточной стенки как грамположительных так и грамотрицательных бактерий.

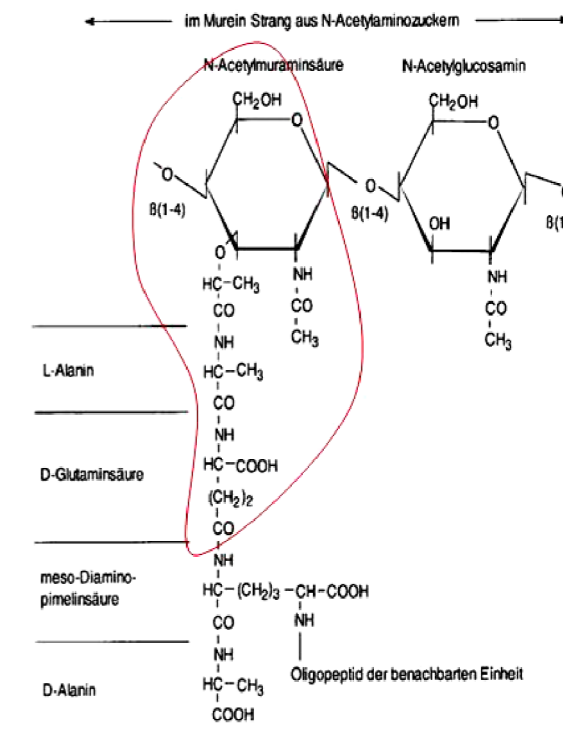


Рис. 1. Фрагмент молекулы пептидогликана клеточных стенок бактерий и МДП в его составе

Остов молекулы пептидогликана – дисахарид. Его образуют N-ацетил-глюкозамин и N-ацетилмурамовая кислота, соединённые через гликозидные связи. К молекуле N-ацетилмурамовой кислоты присоединяются олигопептиды, образующие боковые цепочки.

Связывание фрагментов пептидогликана заключается в образовании пептидной связи между терминальным остатком аминокислотного мостика (D-аланином) с предпоследним остатком примыкающего аминокислотного мостика (L-лизином или диаминопимелиновой кислотой в зависимости от вида бактерии). Боковые мостики образуют четыре аминокислоты, поперечные (вертикально связывающие слои пептидогликана). Путем деструкции пептидогликана получают МДП который состоит из N-ацетилмурамовой кислоты, присоединенной к N-концу L-аланил-Дизоглутамина.

В настоящее время установлено, что МДП обладает всеми необходимыми для патоген-ассоциированных молекулярных структур (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) свойствами, выражающимися в стимуляции врожденного иммунитета и способности формировать защиту от микробных инфекционных агентов у позвоночных [6-7].

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 иммуностимулирующих веществ мурамилпептидного ряда [10].

При пероральном применении целых микробных клеток возможно расщепление мембран клеточных стенок под влиянием агрессивного воздействия сред пищеварительного тракта, но оно является непредсказуемым и хаотичным, и не позволяет получить регулярные продукты деградации пептидогликанов – МДП и его производных. В связи с этим актуальным является изучение вопроса направленного гидролиза пептидогликанов клеточных стенок бактерий с целью получения их иммуностимулирующих фрагментов – пептидов с молекулярной массой 1000 – 1500 Да.

Способы получения и методы исследования микробных гидролизатов

Получение гидролизатов микроорганизмов осуществляют дезинтеграцией их клеточных применяя физические, химические или комбинированные методы [11,13].

К физическим методам дезинтеграции относятся обработка ультразвуком, вращение лопасти или вибратора, встряхивание со стеклянными бусами, продавливание через узкое отверстие под давлением, раздавливание замороженной клеточной массы, растирание в ступке, осмотический шок, замораживание-оттаивание, декомпрессия (сжатие с последующим резким снижением давления), действие высоких температур, СВЧ обработка. Физические способы разрушения клеток более экономичны, чем химические и ферментативные. В то же время этим способом дезинтеграции клеток присуща неизбирательность: обработка может влиять на качество получаемого продукта.

Химические и ферментативные методы более избирательны. Клетки могут быть разрушены толуолом или бутанолом, кислотой, щелочью, антибиотиками, ферментами. Можно использовать автолиз клеток при лимитировании по определенному субстрату росте или их лизис при заражении бактериофагом.

В практических условиях преимущественно используют физические методы дезинтеграции клеточных стенок бактерий в сочетании с химическими или ферментативными.

Среди химических методов выделяют кислотный и щелочной гидролиз. Однако щелочной гидролиз нельзя использовать для гидролиза бактериальной массы, ввиду того что происходит рацемизация большинства аминокислот, а также разрушение лизина, входящего в состав пептидогликана. Кислотный гидролиз проводят, преимущественно, с помощью минеральных кислот при повышенных температурах. Привлекательной стороной кислотного гидролиза является возможность получения гидролизатов в короткие сроки. Еще одним положительным моментом является образование бактерицидных условий в ходе процесса, что предотвращает микробную контаминацию и позволяет хранить гидролизат без консервации продолжительное время.

Однако кислотный гидролиз имеет и свои отрицательные стороны – разрушается часть аминокислот, что может сопровождаться образованием летучих соединений. В литературе имеются сведения, что в низкомолекулярных пептидах (каковым является МДП др.) при кислотном гидролизе образуются концевые структурные деформации, в результате чего они остаются не узнаваемыми рецепторами клеток [11].

При кислотном гидролизе белковых веществ, помимо разрыва пептидной связи, протекают различные сопутствующие реакции. Так дипептиды могут образовывать циклическую форму, а при расщеплении цикла давать дипептид с обратным расположением аминокислотных остатков. Кроме того, нейтрализация кислоты в конце гидролиза связана с образованием высоких концентраций солей. А повышение концентрации анионов в ряде случаев может служить фактором токсичности.

Ферментативные методы гидролиза являются более мягкими и щадящими в сравнении с химическими. Гидролиз проходит в зонах pH, соответствующих максимумам активности ферментов, чаще в нейтральной, слабощелочной или слабокислой среде. Оптимум температур соответствует, как правило, 35 – 50 °С. Ферменты, в отличие от кислот и щелочей, действуют только на определенные группы соединений.

Для разрушения пептидогликанов бактериальных клеточных стенок целесообразно использовать протейолитические ферменты, способные расщеплять пептидные связи в его структуре. Еще одним ферментом, который активно гидролизует бактериальную клетку является лизоцим, на этом, собственно, и основано его антибактериальное действие. Он катализирует гидролиз β-(1→4) гликозидных связей между N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамовой кислотой. На рис. 2 схематически представлена структура пептидогликана клеточной стенки и направление его ферментативного гидролиза посредством протеаз и лизоцима.

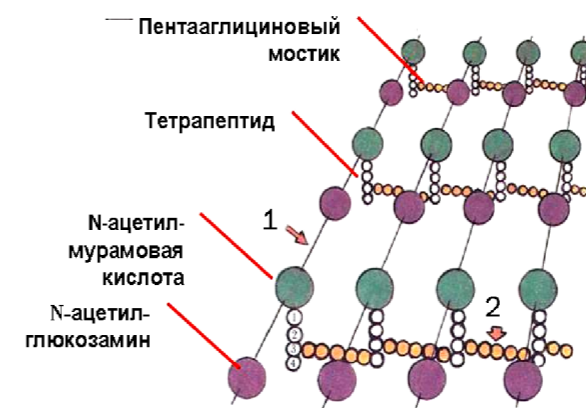


Рис. 2. Схематическое изображение ферментативного гидролиза пептидогликанов: 1 – направление действия лизоцима; 2 – направление действия протеаз

Так, в работе [12] осуществляли гидролиз *Lactobacillus bulgaricus* последовательной обработкой пепсином, лизоцима и ультразвуком.

Получен гидролизат молочнокислых бактерий штамма *L. acidophilus* B 2505 термокислотным методом гидролиза, который был положен в основу

создания лекарственного препарата «Биолактон» [16].

Существует также способ получения препарата [14], содержащего гликопептиды, который предусматривает наработку биомассы клеток *L. bulgaricus* на специальных питательных средах (пептон или соевый экстракт, дрожжевой экстракт, глюкоза и др.); обработку биомассы трипсином, дезинтеграцию биомассы ультразвуком, повторную обработку биомассы трипсином и пепсином, центрифугирование, гидролиз лизоцимом, хроматография.

В работе [15] для получения гликопептидов и других, побочно образующихся биологически активных веществ на основе молочнокислых бактерий, предлагается способ получения гликопептидов на основе комплексной переработки исходного сырья, включающий: получение биомассы молочнокислых продуктов ферментацией на питательной среде; обработка культуральной жидкости кислыми протеолитическими ферментами, преимущественно бромелайном или пепсином; разделение молочнокислой сыворотки ультрафильтрацией; последовательная обработка биомассы ультразвуком или замораживанием-размораживанием, кипячением, лизоцимным гидролизом; разделение суспензии лизоцимного гидролизата на водорастворимую смесь гликопептидов и водонерастворимый остаток, содержащий гликопептиды.

За дезинтеграцией клеток следует этап отделения клеточных стенок. Анализ данных литературы свидетельствует о 3 основных методах, используемых для выделения метаболитных и клеточных фракций микроорганизмов: центрифугирование или осаждение с последующим отделением супернатанта, ультрафильтрация, позволяющая разделить низко и высокомолекулярные вещества. Наиболее рационально использовать процессы ультрафильтрации, поскольку они позволяют получить в мягких условиях максимально сконцентрированную бактериальную взвесь и ультрафильтрат для производства лекарственных препаратов [5,32].

Для идентификации и определения количественного содержания метаболитов и клеточных фракций используют различные физико-химические методы: титриметрические, хроматографические, потенциометрические, электрофоретические, спектрофотометрические. При гидролизе бактериальной массы образуется большое количество биологически активных веществ, среди которых следует выделить, прежде всего, вещества белковой природы (белки, пептиды, гликопептиды, аминокислоты, аминокислота). Обобщенные методы по изучению состава бактериальных гидролизатов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Методы исследования основных компонентов микробных гидролизатов

Компонент микробных гидролизатов	Метод определения
Общий азот	Метод Кьельдаля
Аминный азот	Метод формольного титрования
Белок (пептиды)	Спектрофотометрические методы в УФ-области 200 – 220 нм пептидные группы белка
	280 нм ароматических радикалов аминокислот
	Метод Лоури
	Метод Флореса
	С использованием Биуретового реактива
Углеводный состав	С использованием реактива Бенедикта
	Реакция с нингидрином
	SDS электрофорез в полиакриламидном геле – состав фракций пептидов и белков
	Хроматография
Аминосакхара	Метод Элсона-Моргана
Органические кислоты	Элюирование 70 % этанолом с последующим окислительно-восстановительным титрованием 0.ю01 н щелочью.
	Тонкослойная хроматография

Препараты на основе МДП

Иммуномодуляторы микробного происхождения применяются как в виде самих лизатов микроорганизмов, это такие препараты как: «Бронхомунал», «Иммудон», «ИРС-19», «Постеризан», «Лиастен» так и в виде минимальных биологически активных фрагментов (гликопептиды мурамиддипептидного ряда), полученных синтетическим путем, например «Ликопид», «Ромуртид», «Мурабутид» [17-26].

«Постеризан» (Германия) выпускается в виде ректальных суппозиториях или мази, в состав которых входит экстракт клеточной оболочки *E. coli*, а также гидрокортизон. «Постеризан», являясь комбинированным препаратом для местного применения, повышает местную резистентность к патогенной микрофлоре. В месте воздействия увеличивает фагоцитарную активность лейкоцитов и клеток системы фагоцитирующих мононуклеаров, усиливает образование антител. Стимулирует регенерацию поврежденных тканей.

«ИРС-19» (Франция) выпускается в виде аэрозоля для интраназального применения и содержит лизаты 19 наиболее часто встречающихся

возбудителей заболеваний верхних дыхательных путей: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Klebsiella*, *Moraxella* и др. «ИРС-19» стимулирует специфические и неспецифические защитные механизмы в дыхательных путях.

«Иммудон» (Франция) как и «ИРС-19» представляет собой поликомпонентный препарат, в состав которого входят лизаты 13 видов бактерий, среди которых род *Lactobacillus* представлен 4 видами. «Иммудон» выпускается в виде таблеток для рассасывания для местного применения в стоматологии. Он активизирует фагоцитоз, способствует эффективному образованию антител, оптимизирует функционирование иммунной системы, стимулирует антигенные свойства лизоцима слюны, влияет на увеличение количества иммунокомпетентных клеток, повышает секрецию IgA слюны.

«Бронхомунал» (Словения) представляет собой капсулированную форму лизатов 8 видов бактерий. «Бронхомунал» стимулирует перитонеальные макрофаги, повышает количество лимфоцитов и антител IgA, G, M. Иммуностимулирующее действие лизата бактерий обусловлено влиянием на пейеровы бляшки в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Показаниями к применению данного препарата являются инфекционно-воспалительные заболевания дыхательных путей, причем как у детей, так и у взрослых.

В 2006 году в Украине был зарегистрирован препарат «Лиастен» производства компании «Энзим». Действующее вещество препарата – соединение глюкозаминилмурамилпентапептид относится к группе пептидогликанов и представляет собой выделенные и очищенные путем ряда сложных биотехнологических процессов растворимые фрагменты клеточной стенки специально селектированных *Lactobacillus Delbrueckii*.

В настоящее время синтезировано несколько десятков производных МДП с улучшенными фармакодинамикой, фармакокинетикой и биологической доступностью, обладающих большей иммуностимулирующей активностью и меньшими побочными эффектами по сравнению с исходным препаратом.

Одним из направлений в создании лекарственных препаратов мурамиддипептидной природы была разработка липофильных производных МДП. В этих случаях к МДП присоединяются жирные кислоты или фосфолипиды. Кроме придания молекуле МДП определенной липофильности, для улучшения внутриклеточной доставки этих иммуномодуляторов используются некоторые носители, например липосомы и полимерные капсулы. Это приводит к значительно большей активации клеток моноцитарно-макрофагального

ряда за счет облегчения внутриклеточной иммуномодуляторов путем фагоцитоза носителей.

Разрешение на медицинское применение имеют такие препараты, как ромуртид (N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамин-N6-стероил-L-лизин) в Японии и гилмурид (β-гептилгликозид-МДП), ликопид (N-ацетилглюкозаминил-N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамин, глюкозаминил-МДП, ГМДП) – в России.

За рубежом внедрены в клиническую практику или находятся на завершающих этапах клинических испытаний такие препараты, как мурабутид (N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглута-мин-α-n-бутиловый эфир), 6-О (тетрадецилгексадеканол)-N-ацетилмурамил-L-аланил-Dизоглутамин (вещество В30-MDP).

Однако, разработка и внедрение в производство синтетических производных МДП требует больших материальных и временных затрат и их использование в качестве иммуностимуляторов компонентов диетических добавок не оправдано. Более перспективной является разработка иммуностимуляторов для перорального применения на основе гидролизатов бактерий.

Скрининг потенциальных микробных объектов – источников веществ мурамилпептидного ряда

Основными объектами для получения МДП и сопутствующих биологически активных веществ являются микроорганизмы: *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Staphylococcus warneri*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* и другие [27-33]. Выбор данных микроорганизмов связан как с присущими им физиологическими эффектами, так и со способностью фрагментов клеток и их метаболитов оказывать иммуномодулирующее, антагонистическое и ряд других действий.

Представители рода *Lactobacillus* стимулируют подавленную иммунную систему и не влияют на иммунную систему, находящуюся в нормальном состоянии. Они способны стимулировать систему перитонеальных макрофагов, активировать клетки и структуры, связанные с морфологическим субстратом клеточного иммунитета. Активируя ретикуло-эндотелиальную систему кишечного тракта и способствуя продукции ряда цитокинов, лактобактерии обеспечивают баланс между гуморальным и клеточно-опосредованным типами иммунного ответа. Кроме того, молочнокислые бактерии обладают противоопухолевой активностью.

Бактерии рода *Bacillus subtilis* являются представителями апатогенной спорообразующей транзитной микрофлоры человека. Представляет интерес их способность синтезировать антибиотикоподобные вещества.

Стафилококки относятся к роду шаровидных неподвижных аспорогенных грамположительных хемоорганотрофных факультативно-анаэробных бактерий из семейства *Micrococcaceae*. Продуцируют фибринолизин, фосфатазу, β-лактамазу. Особый интерес представляет феномен продукции низкомолекулярного антибактериального катионного пептида. Этот пептид, по ряду физико-химических и биологических свойств идентифицированный как новый пептид семейства лантибиотиков с молекулярной массой 2999 Да, обладает ингибирующим действием на рост чувствительных и резистентных к антибиотикам бактерий.

Энтерококки – грамположительные кокки, спор и капсул не образуют, факультативные анаэробы. Энтерококки входят в состав нормофлоры человека, играют важную роль в обеспечении колонизационной резистентности слизистых. Они осуществляют метаболизм бродильного типа, ферментируют разнообразные углеводы с образованием в основном молочной кислоты, но не газа, снижая pH до 4,2 – 4,6.

Кишечные палочки – грамтрицательные палочки, не образуют спор, являются факультативными анаэробами. Данные микроорганизмы – нормальные представители микрофлоры толстой кишки; выполняют ряд полезных функций, в том числе антагонистов патогенных кишечных бактерий, гнилостных бактерий, грибов рода *Candida*, принимают участие в синтезе витаминов группы В, Е, К В технологии препаратов на основе метаболитных и клеточных фракций основное значение имеет стадия их выделения из бактериальной биомассы или из их культуральных жидкостей.

Таким образом, для получения бактериальных гидролизатов целесообразно использование комбинации различных видов микроорганизмов, что может обеспечить получение функциональных ингредиентов с широким спектром биологической активности.

Предпочтительным является использование молочнокислых бактерий, поскольку накоплен значительный опыт их культивирования для получения зубиотических лекарственных средств и диетических добавок. Доля пептидогликана в грамположительных лактобактериях составляет около 70 % от сухой массы клеточной стенки (рис. 3), что является одним из приоритетов их использования для получения микробных веществ мурамилпептидного ряда. Кроме того, в ходе гидролиза пептидогликана бактерий образуется целый комплекс соединений, которые проявляют свои биологически активные свойства в совокупности.

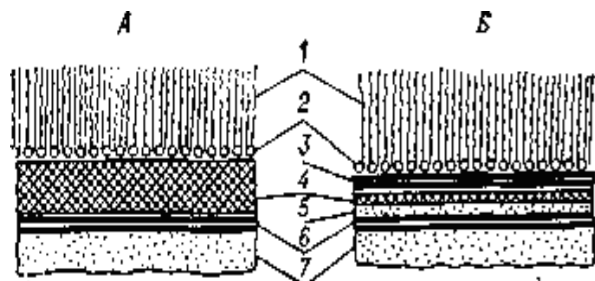


Рис. 3. Схема організації клітинних стінок бактерій: А - грамположительних, Б - грамнегативних
1 – капсула; 2 – слой упорядоченных субъединиц гликопротеида; 3 – внешняя мембрана; 4 – пептидогликан; 5 – периплазма; 6 – цитоплазматическая мембрана; 7 – цитоплазма

Выводы

Для нутритивной поддержки населения, страдающего угнетением функций иммунной системы, перспективным является использование гидролизатов клеточных стенок бактерий, содержащих вещества мурамилпептидного ряда, в качестве иммуностимулирующих функциональных пищевых ингредиентов.

Приоритетной является разработка таких ингредиентов на основе гидролизатов, полученных

из комбинаций различных видов молочнокислых бактерий, что может обеспечить расширение спектра их биологической активности. Для дезинтеграции бактериальных клеток с целью получения фрагментов их клеточных стенок, целесообразно использование ферментативного способа их деструкции с использованием комбинации ферментов протеолитического действия (трипсин, панкреатин) и мурамидазного (лизозим) действия.

При этом бактериальные гидролизаты, предназначенные для перорального применения лицами с расстройствами иммунной системы имеют ряд преимуществ перед их фармакопейными аналогами: инвазивные иммуностимулирующие средства мурамилпептидного ряда, в отличие от пероральных, требуют применения дорогостоящих методов очистки от сопутствующих компонентов бактериальных клеток, образующихся в результате их дезинтеграции; возможно побочное действие высокоочищенных препаратов МДП, что проявляется внезапным возникновением пирогенного эффекта, чего можно избежать в случае их перорального применения; при разработке иммуностимулирующих функциональных ингредиентов для пищевых систем возможна комплексная безотходная переработка бактериального сырья.

Список литературы:

1. Molecular Adjuvants Based on Nonpyrogenic Lipophilic Derivatives of norAbuMDP/GMDP Formulated in Nanoliposomes: Stimulation of Innate and Adaptive Immunity / Pavlína Turánek Knotigová [et al.] // *Pharmaceutical Research*, 2015, 32, 4, 1186. DOI: 10.1007/S11095-014-1516-y
2. MDP and other muropeptides – direct and synergistic effects on the immune system / S. Traub [et al.] // *J. Endotoxin Res.* – 2006. – Vol. 12, N 2. – P. 69–85.
3. MDP Up-Regulates the Gene Expression of Type I Interferons in Human Aortic Endothelial Cells / Qingshan Lv [et al.] // *Molecules*.– 2012, 17, 3599-3608; doi:10.3390/molecules17043599
4. Rapid generation of an anthrax immunotherapeutic from goats using a novel non-toxic muramyl dipeptide adjuvant / C.D. Kelly [et al.] // *J. Immune Based Ther. Vaccines.* – 2007. – Vol. 5, N 11. – P. 1–8. – Режим доступа: <http://www.jibtherapies.com/content/5/1/11>.
5. Молохова Е.И. Разработки отечественных метаболитных пробиотиков и их стандартизация / Е.И. Молохова, Ю.В. Сорокина // *Сибирский медицинский журнал*.– 2011.– Т. 26.– № 15.– Вып. 1.– С. 29–33.
6. Половинкина В.С. Иммуноадьювантные свойства мурамилдипептида / В.С. Половинкина, Е.Ю. Марков // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*.– 2012.– № 1 (83).– С. 149-153
7. Marc A. Boudreau. Messenger Functions of the Bacterial Cell Wall-derived Muropeptides// Marc A. Boudreau, Jed F. Fisher, Shahrar Mobashery // *Biochemistry*, 2012, 51, 14, 2974
8. New muramyl dipeptide (MDP) mimics without the carbohydrate moiety as potential adjuvant candidates for a therapeutic hepatitis B vaccine (HBV) / Nan Zhao [et al.] // *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 21, 14, 4292
9. Андропова Т. Мурамилдипептиды – иммуностимулирующие лекарственные средства нового поколения / Т. Андропова, Б. Пинегин // *Венеролог*. – 2006. – № 6. – С. 11–15.
10. Пинегин Б.В. Препараты мурамилдипептидного ряда – иммуностимулирующие лекарственные средства нового поколения / Б.В.Пинегин, Т.М. Андропова, М.И. Карсонова // *INTERNATIONAL JOURNAL ON IMMUNOREHABILITATION*, No 6, JUNE 1997. <http://peptek.ru/PRODUCT/LICOPID/Articles/ITLS.html>
11. Телишевская Л.Я. Белковые гидролизаты. Получение, состав, применение / Л.Я. Телишевская // *Аграрная наука*, Москва. – 2000.
12. Гаврилин М.В. Выбор оптимальных условий получения гидролизатов молочнокислых бактерий термокислотным способом / М.В. Гаврилин, Г.В. Сеньчукова, С.П. Сенченко // *Хим.-фарм. журн.*– 2007. – Т. 41, № 2. – С. 54–56.
13. Сенченко С.П. Разработка методов анализа и оптимизация состава лекарственного препарата на основе гидролизата молочнокислых бактерий: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Пенза, 2006. – 24 с.
14. Сенченко С.П. Изучение состава препарата, полученного на основе гидролизата молочнокислых бактерий / С.П. Сенченко, В.А. Самойлов, Н.М. Гостищева, Г.В. Сеньчукова, М.В. Гаврилин // *Хим. – фармац. журн.* – Т.39, №3. – 2005. – С. 51-53
15. Пат. на корисну модель RU (11) 2304167 (13) C2 (51) МПК C12P21/00 (2006.01) Способ получения гликопептидов и

гликопептидный продукт, полученный этим способом, для использования в медицине / Ермолаев Е. Д., Софронова О. В., Орлов Н. С., Полякова Л. Л., Пешкова Л. М. // Заявитель: Общество с ограниченной ответственностью "МЕДБИОФАРМ-БИОТЕХ". – Заявка: 2005128653/13, 15.09.2005; опубл. 20.03.2007

16. Гаранян Г.С. Химическое обоснование и биологическое исследование гидролизата на основе культур молочнокислых бактерий / Г.С.Гаранян, Р.А. Ханферян, Э.Т. Оганесян // *Хим. – фармац. журн.* – Т.44, №8. – 2010. – С. 46-49.
17. Биологическая активность аномерных пар липофильных гликозидов N-ацетилмурамил-L-аланин-D-изоглутамина / О.В. Калужин [и др.] // *Бюл. эксп. биол. мед.* – 2008. – Т. 145, № 5. – С. 561–564.
18. Земляков А.Е. б-Диалкилметилгликозиды N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамина: синтез, протективное антиинфекционное и цитотоксическое действие / А.Е. Земляков и др. // *Биоорганическая химия*. – 2008. – Т. 34, № 1. – С. 114-120.
19. Действие гликозидов мурамилдипептида на пролиферацию лимфоцитов и выработку ими интерлейкина-2 / О.В. Калужин [и др.] // *Бюл. эксп. биол. мед.* – 2002. – Т. 134, № 8. – С. 186–190.
20. Действие циклоалкилгликозидов мурамилдипептида на антибактериальную резистентность мышей и продукцию цитокинов мононуклеарами человека / О.В. Калужин [и др.] // *Бюл. эксп. биол. мед.* – 2009. – Т. 148, № 10. – С. 426–429.
21. Стимуляция резистентности мышей к бактериальной инфекции гликозидами мурамилдипептида / О.В. Калужин [и др.] // *Бюл. эксп. биол. мед.* – 2003. – Т. 135, № 5. – С. 531–535.
22. The synthetic immunomodulator murabutide controls human immunodeficiency virus type 1 replication at multiple levels in macrophages and dendritic cells / E.C. Darcissac [et al.] // *J. Virol.* – 2000. – Vol. 74, N 17. – P. 7794–7802.
23. Отечественный иммуномодулятор нового поколения липопид в комплексном лечении и профилактике инфекционных осложнений в хирургической практике / Л.И. Винницкий [и др.] // *Вестник РАМН*. – 1997. – № 11. – С. 46–48.
24. Производные мурамилдипептида в клинике / А.В. Караулов [и др.] // *Актуальные вопросы клинической медицины*. – 2002. – Т. 2. – С. 93–100.
25. The first ferrocene analogues of muramyl dipeptide / Lidija Barišić et al. // *Carbohydrate Research*.– 2011.– № 5.– 678
26. Meshcheryakova E. A. TProtein interaction network and signaling pathways activated by muramyl peptides, / E. A. Meshcheryakova, T. M. Andronova, V. T. Ivanov // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*.– 2010.– 36, 5, 535 DOI: 10/1134/S1068 1620 10050018
27. Rogan, E. Fumuso D. Use of a Mycobacterial Cell Wall Extract (MCWE) in Susceptible Mares to Clear Experimentally Induced Endometritis With Streptococcus zooepidemicus / D. Rogan, E. Fumuso, E. Rodríguez, J. Wade, S.F. Sánchez Bruni // *Journal of Equine Veterinary Science*.– 2007.– 27(3).– 112. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2007.01.010>.
28. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание : в 3 т. – М. : ГРАНТЪ, 2001. – Т. 3. Пробиотики и функциональное питание. – 288 с.
29. Протективная активность субклеточных фракций *Yersinia pestis* при экспериментальной чуме у белых мышей / Е.Ю. Марков [и др.] // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. – 2004. – Т. 2, № 1. – С. 123–127.
30. Влияние субклеточных фракций чумного микроба на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками белых мышей / В.С. Половинкина [и др.] // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. – 2011. – № 3, Ч. 1. – С. 217–220.
31. Ермоленко Е.И. Влияние пробиотических энтерококков на рост *Streptococcus agalactiae* / Е.И. Ермоленко, А.Ю. Черныш, И.В. Марцинковская и др. // *Журн. микробиологии, иммунологии и эпидемиологии*. – 2007. – № 5. – С. 73–77.
32. Несчислаев В.А.. К вопросу разработки пробиотических препаратов из культуральной жидкости лактобактерий / В.А. Несчислаев, Е.И. Молохова, Л.П. Чистохина и др. // *Клиническое питание*. – 2007. – № 1–2. – С. А–55.
33. Волков М.Ю. Метаболиты *Vacillus subtilis* как новые перспективные пробиотические препараты / М.Ю. Волков, Е.И. Ткаченко, Е.В. Воробейчиков и др. // *Журн. микробиологии, иммунологии и эпидемиологии*. – 2007. – № 2. – С. 75–79.

УДК 664.66.022.39

DOI

УДОСКОНАЛЕННЯ ПРОЦЕСУ АКТИВАЦІЇ ДРІЖДЖІВ ШЛЯХОМ ВИКОРИСТАННЯ ФІТОДОБАВОК

Т.Є. Лебененко, кандидат технічних наук, доцент*

E-mail: tatyanaledenko27@mail.ru

В.О. Кожевникова, аспірант*

E-mail: kozhevnikova-viktoria@inbox.ru

Н.Ю. Соколова, кандидат технічних наук*

E-mail: awatana@ukr.net

*кафедра технології хліба, кондитерських, макаронних виробів та харчоконцентратів

Одеська національна академія харчових технологій

вул. Канатна, 112, м. Одеса, Україна, 65039

Анотація Проведено аналіз актуальних задач і проблем хлібопекарської галузі й основних шляхів їх рішення. Обґрунтовано можливість застосування фітодобавок плодів шишшини й глоду у хлібопеченні. Розглянуто вплив їхніх екстрактів на процеси бродіння напівфабрикатів. Встановлено позитивний вплив екстрактів на технологічні властивості дріжджів, швидкість накопичення їхньої біомаси й інтенсивність газоутворення хлібопекарських напівфабрикатів. Досліджено способи підготовки живильного середовища для активації дріжджів за відомими технологіями та з використанням екстрактів фітодобавок, оцінено їхню відповідність потребам бродильної мікрофлори по вмісту поживних, біогенних, олігобіогенних речовин і деяких біостимуляторів. Вивчено процеси адаптації дріжджових клітин до анаеробних умов борошняного середовища, а також