

2020 года / под общ. ред. А. Ю. Просекова. Том 2. – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2020. – С. 198-199

IMPROVING TECHNOLOGIES FOR PRODUCTION OF DELICATE PRODUCTS FROM POULTRY MEAT WITH RASPBERRY EXTRACT

Sidyakina Olga Sergeevna, student, Moscow State University of Technology and Management. K.G. Razumovsky, e-mail: olgafilatova899@gmail.com
Danilova Lyubov Vitalievna, Ph.D. tech. Sciences, Associate Professor, Moscow State University of Technology and Management. K.G. Razumovsky, e-mail: buka99-64@mail.ru

Moscow State University of Technology and Management
after K.G. Razumovsky, Russia, Moscow, e-mail: lolo.0208@yandex.ru

Annotation. *Proper and nutritious nutrition is one of the most important factors determining the health of the population. One of the main directions of state policy in the field of healthy nutrition is the development of high-quality and safe food products.*

Key words: *dry-cured products, poultry meat, technology improvement, raspberry extract.*

УДК 615.36

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ АНТИМИКРОБНЫХ БЕЛКОВ (AMPS) ИЗ ОРГАНОВ И МУКУСА СОМА ЕВРОПЕЙСКОГО (*SILURUS GLANIS*)

Солод Артём Александрович, магистрант, НАО «Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилёва», e-mail: solod2and2artyom@gmail.com

НАО «Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилёва»,
Казахстан, Астана, e-mail: enu@enu.kz

Аннотация: Антимикробные белки (AMPs) – это вещества с антибактериальной активностью, которые можно найти во многих организмах в том числе в рыбах. Целью данного исследования стало выделение, очистка и проверка антибактериальных свойств сома европейского (*Silurus glanis*). Результатом исследования стало получение двух фракций AMPs с широким спектром антибактериальной активности.

Ключевые слова: антимикробные белки, антибиотикорезистентность, антимикробные свойства, гель-фильтрация

Рыбы занимают ключевое место среди позвоночных и имеют большое значение для человека. Они используются в пищевой промышленности и являются источником полезных веществ, включая Омега-3 [1]. Даже отходы рыбной промышленности могут быть полезны, например, для получения антимикробных белков.

Антимикробные белки (AMPs) — это малые пептиды с антибактериальными свойствами, встречающиеся у всех живых организмов. Они малы по размеру (10–100 аминокислот), амфипатичны и имеют положительный заряд, что позволяет им взаимодействовать с бактериальными мембранами, нарушая их целостность [2]. Это делает AMPs устойчивыми к резистентности бактерий, что вызывает интерес в научном сообществе как потенциальное средство против устойчивых к антибиотикам бактерий [3].

На данный момент известно 146 AMPs из рыб, большинство из которых принадлежат к дефензинам и кателицидинам, эффективным против различных бактерий и некоторых вирусов [4, 5]. Однако, рыбные AMPs ещё мало изучены и требуют дальнейшего исследования. Таким образом, данное исследование нацеливается на изучение AMPs из сома европейского (*Silurus glanis*), ранее мало исследованного в данном контексте.

Цель исследования: выделение и изучение антибактериальных свойств фракций белков, выделяемых из кожных покровов и органов сома европейского.

Связи с выбранной целью исследования были выделены следующие задачи:

1. Сбор образцов мукуса из кожных покровов и органов сомов;
2. Выделение чистых фракций белков методом гель-фильтрации;
3. Определение антибактериальной активности, выделенных фракций белков, посевным способом.

Объекты исследования. В качестве изучаемого объекта в данном исследовании выступают пептиды, которые были выделены из мукуса и органов сома европейского (*Silurus glanis*), выращиваемого на базе лаборатории аквапоники и исследования гидробионтов в Евразийском национальном университете имени Л.Н. Гумилёва. Штаммы бактерий видов *E. coli* и *S. Aureus* были предоставлены лабораторией микробиологии на базе Карагандинского университета имени Е.А. Букетова.

Методы исследования

Препарирование рыб и сбор биоматериала. Для проведения эксперимента было отобрано 5 рыб не показывающих признаков болезни со средней массой 3124 ± 32 г и затем были перенесены в отдельный контейнер от всех остальных рыб. Затем, рыбы держались в контейнере без в течении 24 часов без кормления при температуре 25 ± 1 °С, что должно максимизировать количество, выделяемого мукуса в соответствии с похожими исследованиями на других видах сомов. Мукус собирался с дорсальной стороны тела с помощью стеклянной палочки. Далее рыбы были препарированы для изъятия некоторых органов, которые включали: жабры, наджаберные органы и внутренние органы, такие как пищеварительный тракт. После сбора все органы были промыты небольшим количеством холодного физиологического раствора.

Выделение AMPs из различных источников. При выделении белков из биоматериала использовалась техника, описанная Тао Ли и Xiaomei Wang в своём исследовании [6]. Кратко, образцы полученного биоматериала были гомогенизированы в холодном растворе PBS (0.1 М, рН 6), и затем поставлены на водяную баню при температуре в 80 °С на 20 минут. Далее гомогенат центрифугировался в течении 10 минут при 10000 об/мин при 4 °С. После этого, супернатант был насыщен сульфатом аммония до 70% и оставлен в холодильнике при температуре в 4 °С в течении 4 часов. Затем, раствор снова центрифугировался в течении 10 минут при 10000 об/мин при 4 °С. На заключительном этапе, осадок был собран и растворён в дистиллированной воде и был подвергнут диализу до полного освобождения от сульфата аммония.

Очистка полученных белков. Для проведения очистки, полученные осажденные экстракты белков (0,1 г) были растворены в 4 мл PBS (0,1 М, рН 6), а затем пропущены через колонку с Sephadex G-50 и затем элюировались с помощью PBS в соответствии в темпе 0,3 мл/мин. Для контроля содержания фракций белка был использован метод спектрофотометрии при длине волны в 280 нм. Фракции отбирались в соответствии с пиками на хроматограмме.

Проверка полученных фракций на антибактериальные свойства. Для измерения антибактериального эффекта, выделенных пептидов выбор пал на посевной метод проверки антибактериальной активности. Посев бактерий проводился на среду LB. Сам метод заключался в заливе примерно 10 мл среды в чашку Петри, в которую затем заливался второй слой агара (примерно 5 мл) уже добавленной суспензией микроорганизмов. Для этого бактериальная суспензия была разведена до концентрации 10⁶ КОЕ/мл среды, а затем были добавлены в агар при температуре 45 °С. После застывания второго слоя в нём были аккуратно проделаны небольшие колодцы диаметром 6 мм каждый, в которые затем были добавлены по 200 мкл образцов пептида.

Получение и очистка AMPs. Результаты по очистке выделенных белков можно наблюдать на Рисунке 1.

По результатам работы по выделению и очистке выделенных белков на хроматограмме хорошо видны два хорошо выраженных пика, которые характеризуют две отдельные фракции AMPs, содержащиеся в биоматериале сома европейского, данные фракции были обозначены как FP-1 и FP-2 фракции, соответственно. Стоит отметить, что концентрация полученных фракций отличается в зависимости от того, что из какого источника они были выделены. Так, концентрация FP-1 была выше во фракциях, выделенных из желудочно-кишечного тракта и наджаберных органов, тогда как концентрация FP-2 является наивысшей во фракциях, выделенных из мукуса и желудочно-кишечного тракта. Данная особенность скорее всего связана с тем насколько часто тем или иным источникам AMP приходится сталкиваться с различными стрессами, в том числе атаками патогенов. Например, мукус, который является первым препятствием для проникновения патогенов в организм, показывает высокие концентрации обеих фракциях. Кроме того, это может быть связано с условиями выращивания рыб, их физиологическим состоянием и их стадией роста [6].

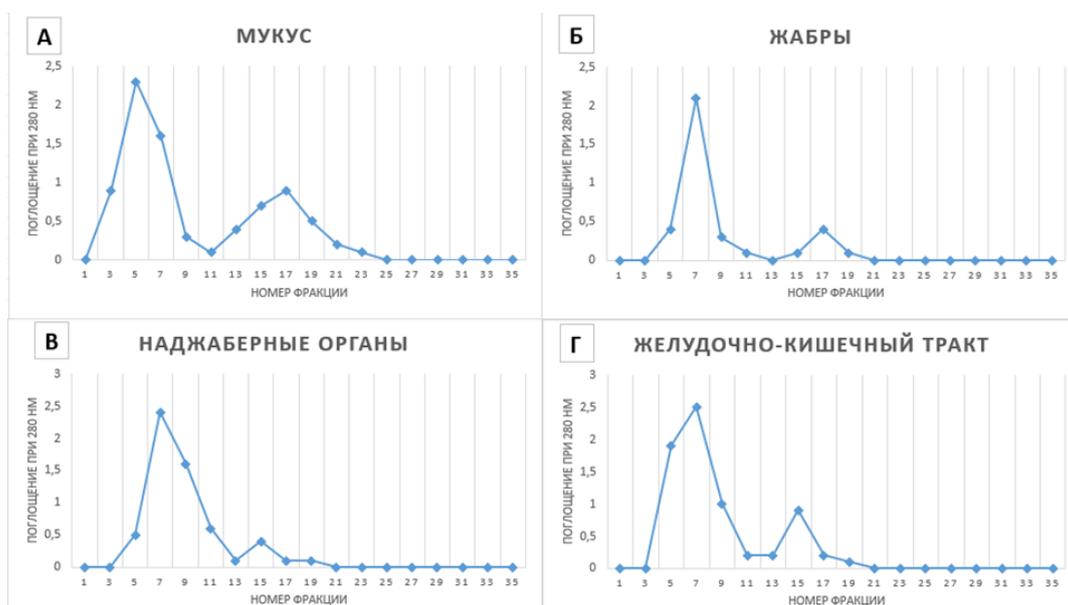


Рисунок 1 – Концентрации антимикробных фракций белков в образцах: А) Образец из мукуса; Б) Образец из жабр; В) Образец из наджаберных органов; Г) Образец из желудочно-кишечного тракта

Тест на антибактериальную активность. Результаты проведённого посева показали, что обе фракции очищенных белков способны к ингибированию роста как грамположительных, так и грамотрицательных бактериальных культур, но степень, в которой они подавляют эти самые культуры зависит от вида бактерии, а также, в меньшей степени от источника пептида. Таким образом FP-1 фракция показывает лучшие результаты против *E. coli*, тогда как FP-2 фракция показывает лучшие результаты против *S. aureus* (см. Таблицу 1). Это вероятно связано с различными функциями, выполняемыми каждой из выделенных фракций. Разница в концентрациях AMPs в зависимости от источника вероятно зависит от дополнительных примесей, содержащихся в том или ином источнике, что может усилить или ослабить антибактериальный эффект AMPs, содержащихся в данных фракциях.

Таблица 2

Антибактериальная активность фракций FP-1 и FP-2 против *E. Coli* и *S. aureus*

Микроорганизм	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	FP-1, см	FP-2, см	FP-1, см	FP-2, см
Мукус	1,02	0,89	1,44	1,56
Жабры	1,09	0,77	0,63	0,82
Наджаберные органы	1,11	0,78	0,91	0,94
Желудочно-кишечный тракт	1,35	1,07	1,24	1,76

На основании полученных результатов можно сформулировать

следующие выводы. По итогам проведённой работы были успешно выделены и очищены две фракции антибактериальных белков, обозначенные как FP-1 и FP-2. Обе выделенные фракции показали свою активность против грамположительных (*S. aureus*) и грамотрицательных бактерий (*E. coli*). При этом, стоит отметить, что FP-1 фракция показала лучшую эффективность против *E. coli*, тогда как FP-2 фракция показала лучшую эффективность против *S. aureus*. Кроме того, эффективность каждой из фракций показывала зависимость от источника выделенной фракции.

Библиографический список

1. Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. *Annu Rev Food Sci Technol.*, 2018, 9. pp. 345-381.
2. Kumar, P.; Kizhakkedathu, J.N.; Straus, S.K. Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility In Vivo. *Biomolecules* 2018, 8. P. 4.
3. Wang, G. Human Antimicrobial Peptides and Proteins. *Pharmaceuticals* 2014, 7. P. 545-594.
4. Antimicrobial Peptide Database. URL: <https://aps.unmc.edu/>
5. Bin Hafeez, A.; Jiang, X.; Bergen, P.J.; Zhu, Y. Antimicrobial Peptides: An Update on Classifications and Databases. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22. P. 11691.
6. Wang XM, Dai W, Xing KZ, Li TJ, Wang X. Antibacterial Activities of Antibacterial Proteins/Peptides Isolated from Organs and Mucus of *Clarias Gariepinus* Reared at High Stocking Density. *AMR*, 2012. P. 455–456.
7. Использование модифицированных и немодифицированных флокулянтов для очистки сточных вод молочной промышленности / Ю. В. Устинова, А. Ю. Темиров, Т. В. Шевченко, Е. В. Ульрих // *Фундаментальные исследования.* – 2008. – № 6. – С. 70-71
8. Риск-ориентированный подход в технологии обогащенных мучных кондитерских изделий / А. М. Чистяков, И. Ю. Резниченко, М. В. Петрова, Ю. В. Устинова // *Ползуновский вестник.* – 2020. – № 3. – С. 55-59. – DOI 10.25712/ASTU.2072-8921.2020.03.010

ISOLATION AND STUDY OF THE PROPERTIES OF ANTI-MICROBIAL PROTEINS (AMPS) FROM THE ORGANS AND MUSCUS OF THE EUROPEAN CATFISH (SILURUS GLANIS)

Solod Artyom Aleksandrovich, master's student, NJSC Eurasian National University named after L.N. Gumilyov, e-mail: solod2and2artyom@gmail.com

NJSC Eurasian National University named after L.N. Gumilev,
Kazakhstan, Astana, e-mail: enu@enu.kz

Abstract: *Antimicrobial proteins (AMPs) are substances with antibacterial activity that can be found in many organisms, including fish. The aim of this study was to*

isolate, purify and test the antibacterial properties of European catfish (Silurus glanis). The result of the study was the production of two fractions of AMPs with a wide spectrum of antibacterial activity.

Key words: *antimicrobial proteins, antibiotic resistance, antimicrobial properties, gel filtration*

УДК 673.5

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КОЛЛАГЕНА, ПОЛУЧЕННОГО С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЕРМЕНТОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Тинамбуан Деннис Габриел, магистрант Технологического института, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», e-mail: tinambunandennis@gmail.com

Красуля Ольга Николаевна, д-р. техн. наук, профессор, профессор кафедры технологии хранения и переработки продуктов животноводства, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», e-mail: okrasulya@mail.ru

ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Россия, Москва, e-mail: rector@rgau-msha.ru

Аннотация: В статье приведены результаты сравнительного анализа методов получения коллагена с помощью ферментов микробиологического происхождения: нейтразы и смеси алкалазы и нейтразы. Сделаны выводы об эффективности ферментной обработки коллагенсодержащего сырья из мяса птицы.

Ключевые слова: фермент, коллагенсодержащее сырьё, ферментные препараты, коллаген, мясо птицы.

Одним из наиболее перспективных направлений, в части технологии съедобных пищевых пленок, является применение биоконверсии коллагенсодержащего сырья из мяса птицы. Съедобные пищевые пленки не претендуют на замену традиционных упаковочных материалов, но обеспечивают дополнительную помощь в сохранении продуктов питания и снижают стоимость и количество традиционных упаковочных материалов [1].

Для выделения коллагена, с целью его дальнейшего использования в качестве основы пищевого матрикса при получении съедобных пищевых покрытий, используют различные способы гидролиза, но наиболее перспективным является биотехнологический с применением ферментов. Ферменты не являются чужеродными для человеческого организма веществами,