

УДК 620.2:664.663

Власенко В.В., доктор біологічних наук, професор
Тонкопій С.А., магістрант
Вінницький національний аграрний університет
Власенко І.Г., доктор медичних наук, професор
Вінницький торговельно-економічний інститут КНТЕУ

ВИКОРИСТАННЯ ЛАКТОКОКІВ З ВИСОКОЮ ПРОТЕОЛІТИЧНОЮ ВЛАСТИВІСТЮ У ПТАХІВНИЦТВІ ТА ХАРЧОВІ ПРОМИСЛОВОСТІ

Розглянуто питання м можливості і використання лактококів з високою протеолітичною властивістю у птахівництві. Показано позитивний вплив на продуктивність птиці. Так зростання живої маси було за час дослідів вищим в межах від 13,37 до 22,25% порівняно з контрольною групою, причому дані різниці були статистично вірогідними протягом всього часу проведення експерименту.

Ключові слова: харчові добавки, лактококи, лактози, нізин, пептиди, молочнокислі бактерії, харчовий сухий кисломолочний продукт.

Питання про харчову і біологічну цінність молока і молочних продуктів сьогодні знає ретельного перегляду. Результати сучасних досліджень дозволяють вважати казеїнові білки попередниками низькомолекулярних біологічно-активних пептидних регуляторів, які здатні впливати на роботу різних фізіологічних систем організму. Було встановлено, що вони володіють особливими властивостями, що дозволяє розглядати їх як можливі засоби корекції гіпертонічної хвороби та профілактики серцево-судинних захворювань.

Перші роботи в цьому напрямку були проведені наприкінці 1970-х - на початку 1980-х років у Німеччині групою Віктора Брантла [1], а у нашій країні — у лабораторії М.П.Чернікова, який зазначав [2], що казеїни є першими аліментарними білками, які впливають на ряд фізіологічних функцій організму як в постнатальному періоді, так і в дорослому віці. В.Г.Юкало і співавт. [3] у 1991 р. висунули припущення про можливість утворення фізіологічно-активних пептидів під дією протеолітичних систем молочнокислих бактерій, зокрема лактококів. Молчнокислі бактерії роду *Lactococcus* тривалий час розглядалися як молочнокислі стрептококи [4-6], антигенної групи N [7], проте у 1985 р. Schleifer і Kilpper-Balz [8] перенесли вид *Streptococcus lactis* та споріднені види антигенної групи N до нового роду *Lactococcus* [9,10]. Лактококи, у складі чистих чи змішаних культур, є важливими представниками багатьох мезофільних заквасок [11]. Проте, у літературі велика увага присвячена технологічним питанням використання протеаз лактококів та травних ферментів у формуванні сирного згустку, утворенні аромату, динаміці дозрівання та ін. [12].

Не зважаючи на значну кількість наукових робіт із зазначених питань, проблема використання протезної активності молочнокислих бактерій залишається до кінця не вирішеною.

Матеріал та методи дослідження. Враховуючи особливості культивування молочнокислих бактерій, нами була проведена серія дослідів для з'ясування оптимального складу штамів молочнокислих бактерій, які при культивуванні давали б фізіологічно активні пептиди.

Матеріалом дослідження служили знежирене молоко для виділення нативного казеїну і молочнокислі бактерії. При періодичних пасажуваннях молочнокислих

бактерій, як поживне середовище використовували стерилізоване знежирене молоко. Термостатували до згортання білку при температурі 30°C і зберігали між пересівами при 1 +4°C. Пересіви здійснювали через кожні двадцять діб. Енергію кислотоутворення визначали методом титрування.

Результати досліджень. Відбір активних протеїназо-позитивних штамів був проведений нами на основі аналізу протеолітичної активності 10 штамів лактококів, які культивуються на кафедрі мікробіології Вінницького державного аграрного університету. Результати оцінки протеолітичної активності (табл. 1) досліджуваних штамів показали, що найбільша протеолітична властивість виявлена у штамів *Lactococcus lactis* №2, тоді як активність *Lactococcus lactis* №7 була значно менша. В подальшому штами були використані для досліджень накопичення продуктів протеолізу молочних білків. Крім вивчення протеолітичної активності також паралельно вивчали активність кислотоутворення, стійкість до NaCl та антибіотиків, фагорезистентності серед лактококів підвидів *Lactococcus lactis subsp. lactis* №2 *L. lactis subsp. cremoris* №7. В результаті дослідження встановлено, що вищезгадані штами володіли стійкістю до 4% розчину кухонної солі у знежиреному молоці, стійкістю до пеніциліну, стрептоміцину та були фагочутливі в 1,33% випадків і давали через 168 год. у знежиреному молоці рН середовища 4,50-4,54.

Таблиця 1. Протеолітична активність штамів підвидів: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* №2, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* №7, при інкубації на загальному казеїні

Штам	Протеолітична активність мг% тирозину+триптофану, через		
	24 год.	72 год.	168 год.
№2	6,3	7,6	10,3
№7	-0,05	0,043	0,18

Для отримання молочних пептидів готували знежирене молоко, яке ділили на дві частини. Перша служила контролем, куди додавали *Lactococcus lactis* №7, друга частина була дослідною, в неї додавали *Lactococcus lactis* №2 з високою протеолітичною активністю. Клітини лактококів вирощували при t 30°C і концентрації 10¹⁰ клітин в 1 мл. Після 54 год. дії протеолітичних ферментів зразки розводили 0,1% желатином і висушували, розпилюючи в сушильній камері й отримували сухий молочний препарат – харчова добавка (ХЧ). Отриманий препарат був перевірений на біологічних об'єктах (курчата). Схема проведення дослідження показана в табл. 2.

Таблиця 2. Використання комбінацій молочнокислих бактерій для виготовлення харчового кисломолочного продукту (n = 10)

Групи курчат	Характеристика курчат	Штами молочнокислих бактерій, використаних в I фазі виготовлення " ХЧ "
1 контрольна	ОР	-
1 дослідна	ОР + "ХЧ"	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> №2
2 дослідна	ОР + "ХЧ"	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> №7

Примітка: ОР - основний раціон, ХЧ - харчовий сухий кисломолочний препарат

Таким чином, ми вивчали залежність ефективності ХЧ (харчової добавки) від певного складу молочнокислих бактерій. Вплив ХЧ вивчали на групі аналогів птиці. Для цього визначали загальні та середньодобові прирости живої маси шляхом зважування (через кожні 10 днів) курчат контрольної і дослідних груп. Отримані результати досліджень при згодовуванні ХЧ на біологічних об'єктах наведені в табл. 3.

Таблиця 3. Динаміка змін живої маси курчат залежно від підбору комбінацій молочнокислих бактерій ($M \pm m$; $n = 10$)

Групи	% до контролю	Вік, дні				
		10	20	30	40	90
		Середня жива маса однієї голови				
1	%	83,10±0,32 100	165,04±1,35 100	280,10±2,42 100	394,93±4,24 100	1072,34±8,63 100
2	%	*** 94,28±1,02 113,45	*** 197,99±2,63 119,97	**** 341,66±2,35 121,98	**** 479,82±2,91 121,50	**** 1215,70±8,91 122,25
3	%	*** 88,12±1,40 106,04	*** 181,46±1,56 109,95	*** 311,03±3,32 111,08	*** 432,54±3,96 109,52	**** 1146,88±9,82 109,96

Примітка: ** - $p < 0,02$; *** - $p < 0,01$; **** - $p < 0,001$.

З результатів досліджень видно, що контролем служила перша група, у якої основний раціон складався з комбікормів і жива маса у відповідному віці була оцінена за 100%.

В другій групі, де використовували *Lactococcus lactis* №2, при аналізі отриманих результатів відмічається стійке зростання живої маси (порівняно з контрольною групою) протягом 3-місячного терміну і в кінцевому результаті жива маса була вищою на 13,37% або на 143,36 г. Зростання живої маси було за час досліду вищим в межах від 13,37 до 22,25% порівняно з контрольною групою, причому дані різниці були статистично вірогідними протягом всього часу проведення експерименту ($p < 0,01-0,001$).

В третій дослідній групі, в якій до раціону додавали *Lactococcus lactis* №7, відмічався дещо нижчий приріст показників живої маси порівняно з другою групою. Так, жива маса в тримісячному віці була на 74,54 г або 6,95% більшою, ніж у контрольній групі, і різниця була статистично вірогідною протягом всього часу експерименту ($p < 0,01$) і на 4,56-11,08% нижчою, ніж у другій групі.

Отже, як витікає з результатів досліджень, молочнокислі бактерії, зокрема лактококи, у яких висока протеолітична активність на казеїн молока, мають змогу утворювати фізіологічно активні пептиди під дією ферментативних систем.

Фізіологічно активні пептиди, які утворені ферментативними системи молочнокислих бактерій, позитивно впливають на організм, що підтверджено дослідженнями на птиці. Очевидно, отримані результати дають підставу погодитись з думкою вчених [1-3], що молочні пептиди позитивно впливають на ряд фізіологічних функцій, як в молодому так і в дорослому віці.

Таким чином, отримана нами харчова добавка – фізіологічно-активні пептиди може використовуватись не лише в птахівництві, а і при виробництві сирів та інших кисломолочних продуктів, що значно підвищить їх харчову та біологічну цінність. Продовжується робота по розробці нових рецептур твердих та м'яких сирів з

додаванням в різній кількості та комбінаціях фізіологічно активних пептидів (ХЧ). Наукові роботи по використанню фізіологічних пептидів при виробництві твердих сичужних сирів проводяться разом з науковцями Вінницького медичного університету ім. М.І.Пирогова.

Висновки. 1. Виходячи з отриманих результатів досліджень та аналізу доступних наукових даних, можна зробити висновок, що молочнокислі продукти, які містять лактококи з високою протеолітичною властивістю, можна використовувати як продукцію лікувально-профілактичного призначення для птахівництва.

2. Думається, що лактококи з високою протезною активністю до молочних казеїнів, можна використовувати при виробництві продуктів лікувально-профілактичного призначення для людей, що значно покращить їх харчову та біологічну цінність.

Література

1. Brantl V., Teschemacher H., Henschen A., Lottspeich F. Novel opioid peptides derived from casein (p-Casomorphins). I. Isolation from bovine casein peptone // Hoppe-Seylers Zeitschrift fur physiologische Chemie. - 1999. - V.360. - №9. - P. 1211-1216.
 2. Черников М.П. Протеолиз и биологическая ценность белков (казеины как собственно пищевые белки).- Москва: Медицина, 1995.-231 с.
 3. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Протеолиз казеинов ферментами молочнокислих стрептококков// Тезиси докладов Всесоюзной конференции "Химические превращения пищевых полимеров".-Калининград.-2003.-С.22.
 4. Богданов В.М. Микробиология молока и молочных продуктов.- Москва: Пищевая промышленность, 1999.-450 с.
 5. Квасников Е.И., Несторенко О.А. Молочные бактерии и пути их использования.- Москва Наука, 1995.-384 с.
 6. Королева Н.С. Основы микробиологии и гигиены молока и молочных продуктов.- Москва: Легкая и пищевая промышленность.-2001.-158 с.
 7. Wicken A.J., Knox K.W. Characterization of group N streptococcus lipoteichoic acid // Infection and Immunity. - 1999. - V. 11. - №5. - P.973 - 981.
 8. Schleifer K.H., Kilpper-Balz R. Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review // Systematic and Applied Microbiology.-1998.-V.10.-P.1-19. 125.
 9. Schleifer K.H., Kraus J., Dvorak C., Kilpper-Balz R., Collins M.D., Fisher W. Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. // Systematic and Applied Microbiology. - 1998. - V.6. - P. 183-195.
 10. Colman G. *Streptococcus* and *Lactobacillus* I In: Topley & Wilson" s Principles of bacteriology, Virology and Immunity.- Eighth Ed.- / Eds.: Parker M.T., Duerden B. - 1995. - Philadelphia: B.C.Decker Inc.-V2."Systematic Bacteriology". - P.120-159.
 11. Cogan T.M. Mesophilic starters // Les laits fermentes. Actualite de la recherche. - London Paris: [John Libbey Eurotext. - 1999. - P. 19-26.
 12. Visser S. Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavor: an overview //Journal of Dairy Science, - 1998. - V.76. - №1. - P.329-350.
-

Summary**USE of LAKTOKOKIV With HIGH PROTEOLITICHNOY PROPERTY In PТАКНІВНИЦТВИ AND FOOD INDUSTRY of // Vlasenko V., Vlasenko I., Tonkopiyy S.**

The question of mcode of possibility and use of laktokokkiv is considered with high proteolitichnoy property in the poultry farming. Positive influence is rotined on the productivity of bird. So growth of living mass was in times of experience more high scope from 13,37 to 22,25% by comparison to a control group, thus these differences were statistically reliable at all time leadthrough of experiment.

Keywords: food additions, laktokoki, lactose, nizin, peptids, lactobacilluss, food dry soul-milk product.

УДК 619:616.98:579.873.21

Литвин В.П., доктор ветеринарних наук, професор
Литвиненко В.М., кандидат ветеринарних наук, доцент
Гомзиков О.М., кандидат ветеринарних наук, асистент
Національний університет біоресурсів і природокористування України

ПРОФІЛАКТИКА ТУБЕРКУЛЬОЗУ В ТВАРИННИЦТВІ УКРАЇНИ

Оздоровлення неблагополучних господарств від туберкульозу можливе лише шляхом розриву епізоотичного процесу за умов ранньої діагностики, видалення та забою хворої худоби, забезпечення поголів'я на літній період пасовищем з утриманням в літніх таборах, проведення комплексу протиепізоотичних заходів.

Ключові слова: туберкульоз, патогенні мікобактерії, атипові мікобактерії, КАМ, ААМ туберкуліни, інфекційний процес, епізоотичний процес, природна резистентність.

Історично склалося так, що туберкульоз для людини, великої рогатої худоби та 50 видів домашніх тварин, 25 видів птиці залишається найнебезпечнішою хворобою і глобальною проблемою у світі. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (2004), одна третина населення планети, а це 2 млрд осіб, інфіковані мікобактерією туберкульозу. Щороку виявляють понад 9-10 млн людей, які вперше захворіли, а помирає понад 2 млн чоловік. Загальна кількість хворих на цю хворобу сягає більше 60 млн. осіб [1, 2, 3, 4].

Значне зростання захворюваності у світі на туберкульоз людей ускладнюється епідемією СНІДу, а за останні роки наркоманією серед молоді, що призвело до вибухового розповсюдження ВІЛ-інфекції.

Не обійшла ця проблема віку і Україну. За даними медичних працівників [12, 14], захворюваність на туберкульоз в Україні зросла на 101,7 %, або у 2 рази, смертність збільшилася на 61,4 % або у 1,6 рази. Серед громадян країни зареєстровано захворювання на ВІЛ-інфекцію (29,2 осіб на 100 тис. населення) та на СНІД (9 осіб на 100 тис. населення). У хворих на ВІЛ і СНІД серед опортуністичних захворювань перше місце належить туберкульозу – 64,6%, який і є основною причиною смертності цих хворих [5, 7, 10].

Вищезазначене свідчить про те, що в Україні основним джерелом збудника інфекції туберкульозу є хвора людина (антропозооноз) і лише друге місце посідає тварина