

УДК 66.047

**НОВОЕ В БИОТЕХНОЛОГИИ ЛИЗОЦИМА ИЗ ЖИВОТНОГО СЫРЬЯ*****Г.П. Шуваева, П.А. Ворон, Т.В. Свиридова, О.Л. Мещерякова****Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

Разработка биотехнологии и изучение свойств лизоцима для использования его как препарата широкого антимикробного действия является актуальной задачей.

Лизоцим – природный белок-фермент, синтезируемый животным организмом. Благодаря ему, в компоненте клеточной стенки бактерий пептидогликане (муреине), происходит гидролиз гликозидной связи между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой, что приводит к разрушению структуры клеточной стенки и, как следствие, гибели бактериальной клетки. Защитная функция мурамидазы используется для разработки новых компонентных препаратов на основе лизоцима, как консервирующей добавки натурального происхождения для применения в пищевой промышленности, в том числе, в технологии производства продуктов детского питания, в медицине как противомикробное средство. Современный рынок располагает лизоцимсодержащими добавками импортного производства – «Клеризима» и «Delvozyme», которые используют вместо искусственных консервантов или совместно с ними, однако доля отечественного лизоцима на ранке ферментных препаратов весьма незначительна, не более 20 %.

На сегодняшний день для промышленного производства мурамидазы чаще всего используют яичный белок, который по содержанию мурамидазы превосходит другие источники, но это производство имеет высокую стоимость и недостатки, связанные с сопутствующими примесями, вызывающими аллергические реакции. В связи с этим, перспективным является разработка методов получения лизоцима из другого сырья – слюнных желез крупного рогатого скота.

В связи с этим, цель исследования состояла в разработке технологии лизоцима из отходов мясоперерабатывающего производства – слюнной железы крупного рогатого скота, рациональное использование которой создает дополнительные резервы для успешной реализации безотходных технологий и импортозамещения.

Слюнные железы крупного рогатого скота, собрали в парном состоянии до или после отделения голов на подвесных путях конвейера Воронежского мясокомбината в соответствии с общими требованиями, предусмотренными при заготовке эндокринно-ферментного сырья.

Хранили слюнные железы в холодильных камерах при температуре 18–20° С ниже нуля.

Выделение околоушной слюнной железы – gl. parotis осуществляли после рассечения околоушной фасции и иссечения основания железы, которое находится в углублении под корнем ушной раковины и крыльями атланта, прикрывающими задний край железы. Иссечение вентральной части нижнечелюстной железы – gl. mandibularis делали в области межчелюстного пространства, рассекая массетер.

После изъятия слюнных желез проводили процесс экстракции фермента, предварительно измельчив железы на волчке до диаметра частиц (0,1–0,3) мм.

Было изучено влияние природы экстрагента и времени экстракции на количество и активность выделяемого фермента. Для этого равный объем фарша слюнных желез заливали 5 кратным количеством экстракционной жидкости. Полученную суспензию оставляли стоять в течение 5 – 6 часов при комнатной температуре, после чего жидкость отфильтровывали через асбестовый фильтр. Учитывая физико-химические и биологические свойства лизоцима, в качестве экстрагентов были выбраны вода, 0,15 М раствор NaCl, 0,1 М уксусная кислота и 1 %-ный раствор лимонной кислоты.

В полученном фильтрате проверяли активность лизоцима нефелометрическим методом. Наиболее эффективным оказался хлорид натрия (рис. 1). При экстракции 0,15 М раствором данной соли, активность лизоцима была наиболее высокой.



Рисунок 1 – Активность мурамидазы в зависимости от экстрагента

Для оценки влияния времени экстракции на активность мурамидазы экстрагирование вели в течение 10 часов, каждые 2 часа определяя активность лизоцима (рис. 2). Как видно из рисунка, наибольшей активностью обладает экстракт, полученный при экстракции в течение 6 часов. Уменьшение времени экстракции до 4 часов или увеличение до 8 ч снижает активность фермента в экстракте.

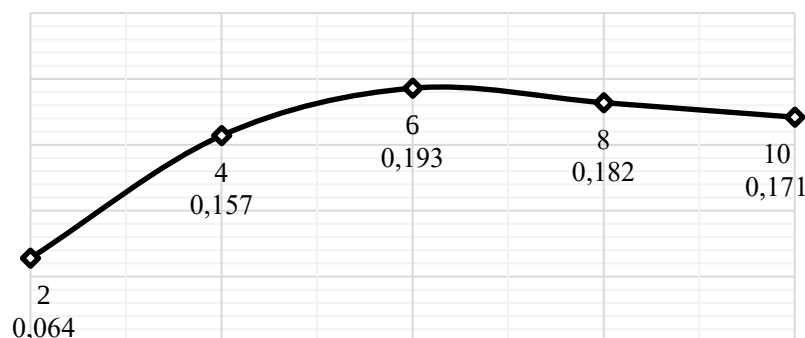


Рис. 2 – Влияние времени экстракции на активность фермента

Полученный фильтрат, содержащий лизоцим, смешивали в равных пропорциях с раствором желатина, который предварительно растворяли в воде в соотношении 1 : 10 при температуре (35 – 40)° С, способного образовывать при охлаждении студень. После тщательного размешивания полученную смесь разливали в формы и охлаждали до температуры 10° С.

Полученный после охлаждения студень разрезали на пластины толщиной около 0,5 см, и высушивали методом лиофилизации. После высыхания листы желатина представляют собой сухой препарат лизоцима, включенного в высохший коллоид. В таком виде он хорошо сохраняется, так как защищен от внешних воздействий и не соприкасается с воздухом [2].

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Уникальные антимикробные свойства мурамидазы, ее участие в неспецифической защите организма и широкое распространение в природе, свидетельствуют о перспективе применения в различных отраслях пищевой промышленности, животноводства и медицины.

Установлено, что мурамидаза, полученная из слюнных желез КРС, обладает высокой антимикробной активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Благодаря отсутствию посторонних примесей и балластных белков, от которых тяжело избавиться при производстве мурамидазы из куриного белка, лизоцим из слюнных желез КРС не вызывает аллергических реакций.

Использование слюнных желез КРС, позволит увеличить эффективность переработки отходов мясного производства, так как ранее слюнные железы не использовались самостоятельно и направлялись на переработку вместе с головами.

Были подобраны условия экстракции лизоцима из слюнных желез КРС: температура –  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ , время – 6 ч, экстрагент – 0,15 М хлорид натрия. Для желирования фермента предлагается использовать желатин.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Солецкая А.Д. Перспективы применения лизоцима при производстве мясных продуктов / А.Д. Солецкая // *Хімія харчових продуктів і матеріалів. Нові види сировини.* – Харчова наука і технологія **65** 2(23) 2013
2. Ворон П.О. Совершенствование биотехнологии получения фермента мурамидазы из животного сырья / П.О. Ворон, доцент Шуваева Г.П. // Молодой исследователь: вызовы и перспективы: сб. ст. по материалам СХХІІІ Международной научно-практической конференции «Молодой исследователь: вызовы и перспективы». – № 23(123). – М., Изд. «Интернаука», 2019