

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ІВАНА ПУЛЮЯ  
ФАКУЛЬТЕТ ІНЖЕНЕРІЇ МАШИН, СПОРУД І ТЕХНОЛОГІЙ  
КАФЕДРА ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ І ХІМІЇ

**ПРОЦИК ДЕНИС ІВАНОВИЧ**

УДК 577.112

**ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ФОСФОПЕПТИДІВ  
З ПРОТЕЇНІВ МОЛОКА**

**181 “Харчові технології”**

**Автореферат**

дипломної роботи на здобуття освітнього ступеня «магістр»

Тернопіль  
2019

Роботу виконано на кафедрі харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя Міністерства освіти і науки України

**Керівник роботи:** кандидат технічних наук, доцент кафедри харчової біотехнології і хімії  
**Сторож Людмила Анатоліївна**  
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя

**Рецензент:** Доктор технічних наук, професор, професор кафедри кафедри обладнання харчових технологій  
**Стадник Ігор Ярославович,**  
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя

Захист відбудеться 27 грудня 2019 р. о 9<sup>00</sup> на засіданні екзаменаційної комісії №18 у Тернопільському національному технічному університеті імені Івана Пулюя за адресою: 46000, м. Тернопіль, вул. Танцорова, 5, навчальний корпус №5, ауд. 14.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми роботи.** Протеїни у харчуванні людини відіграють важливу роль, оскільки вони є джерелом природних незамінних амінокислот, разом з тим спостерігається їх дефіцит в харчових продуктах. Відкриття в складі природних харчових протеїнів біологічно активних пептидів з широким спектром біологічної дії призвело до суттєвих змін в розумінні ролі протеїнів в харчуванні людини. Такі біологічно активні пептиди можуть утворюватися в процесі нормального травлення і відігравати важливу роль не лише в забезпеченні організму амінокислотами, але й в регуляції фізіологічних функцій організму. Зокрема, вони позитивно впливають на нервову та імунну системи, систему згортання крові, можуть регулювати артеріальний тиск. Серед інших особливої уваги заслуговують біоактивні фосфопептиди. Ці пептиди відіграють важливу роль в мінеральному обміні, а саме в засвоєнні двовалентних іонів  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  та інших. Важливими властивостями казеїнових фосфопептидів є їхня здатність зв'язувати кальцій і переводити його в розчинну форму. В деяких країнах фосфопептиди використовують як добавки до продуктів харчування. В Україні до сьогоднішнього дня не розроблено методику виділення таких біоактивних фосфопептидів. Виробництво таких фосфопептидів могло б призвести до створення нових функціональних продуктів, які так необхідні для населення України.

**Мета роботи:** виділити біологічно активні фосфопептиди з протеїнів казеїнового комплексу.

Для досягнення поставленої мети необхідно виконати наступні завдання:

1. Провести літературний та патентний пошук щодо біологічно активних пептидів з протеїнів молока, шляхів їх утворення.
2. Виділити протеїни – попередники біологічно активних пептидів з коров'ячого молока.
3. Провести протеоліз казеїнового субстрату ферментним препаратом тваринного походження – панкреатином і виділити казеїнові фосфопептиди.
4. Охарактеризувати молекулярну масу отриманих біологічно активних фосфопептидів.

**Об'єкт, предмет та методи дослідження.**

Об'єктом дослідження були фосфопропротеїни коров'ячого молока, біологічно активні фосфопептиди.

Предмет дослідження: протеолітичні перетворення загального фосфопропротеїнового субстрату за дії ферментного препарату тваринного походження «Панкреатин».

Методи виконання роботи: загальноприйняті і спеціальні фізичні-хімічні, біохімічні, аналітичні методи з використанням сучасних пристроїв і комп'ютерних технологій.

**Наукова новизна отриманих результатів:**

У роботі для встановлення молекулярних мас фосфопептидів з коров'ячого молока запропоновано проводити їх розділення гель-фільтрацією з

використанням набору сефадексів, які відрізняються між собою межею виключення. Використавши ефект «молекулярного сита», на якому основана гель-фільтрація, нам вдалося виділити низькомолекулярні біоактивні фосфопептиди з молекулярною масою, яка відповідає відомим природним біоактивним фосфопептидам.

#### **Практичне значення отриманих результатів.**

Фосфопептиди, отримані за дії ферментного препарату «Панкреатин» на загальний фосфопротеїновий субстрат в умовах, що моделюють фізіологічні процеси перетравлювання в шлунково-кишковому тракті, можуть бути використані як функціональні інгредієнти у харчових продуктах, зокрема і молочних.

**Апробація.** Участь у VII-й міжнародній науково-практичній конференції «Хімія, біо- і нанотехнології, екологія та економіка в харчовій та косметичній промисловості», Харків, 7-8 листопада 2019 р.

**Структура роботи.** Робота складається із вступу, основної частини, висновків та пропозицій до впровадження, списку використаної літератури, додатків. Основний зміст роботи викладено на 88 сторінках і містить 6 таблиць, 12 рисунків. Список використаної містить 71 найменування.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

У **вступі** визначено актуальність теми дослідження та зроблено постановку проблеми щодо необхідності виділення біологічно активних фосфопептидів і використання їх як функціональних інгредієнтів.

У **розділі «Огляд літератури»** проведено аналіз стану питання за літературними та іншими джерелами, обґрунтовано актуальність роботи, виконано постановку задачі на дипломну роботу.

У **матеріалах і методах досліджень.** Описано використані методики та методи досліджень.

У **розділі «Власні дослідження»** розкрито мету і завдання роботи. Даний розділ складається з трьох основних підрозділів.

У підрозділі «Виділення протеїнів - попередників біологічно активних фосфопептидів». Наведено схему отримання осаду фосфопротеїнового субстрату. Проведено електрофоретичний аналіз цього субстрату для встановлення його фракційного складу. Виявлено, що осад фосфопротеїнового субстрату, отриманий потрійним переосадженням в ізоелектричній точці, містить всі основні казеїнові фракції відповідно до сучасної класифікації і може використовуватися як джерело біологічно активних фосфопептидів.

У підрозділі «Протеоліз загального фосфопротеїнового субстрату ензимним препаратом «Панкреатин» обґрунтовані умови протеолізу протеїнів-попередників з метою отримання біологічно активних фосфопептидів. Для наближення протеолізу до умов нормального травлення протеїнів молока в шлунково-кишковому тракті запропоновано наступні умови: температура 37°C, рН середовища 7,9. На різних етапах протеолізу (0 хв, 60 хв, 120 хв, 180 хв) проаналізовано ступінь протеолізу фосфопротеїнів. Встановлено, що

найінтенсивніше розщеплення фосфопротеїнів молока проходить у перші 120 хв., подальше наростання кількості продуктів протеолізу впродовж до 180 хв є незначним. Фосфопептиди із реакційного середовища виділялися осадженням іонами кальцію у присутності етанолу. Визначено їх вихід, який становив 11,56 %.

У підрозділі «Визначення молекулярних мас фосфопептидів» проведено гель-фільтрацію з використанням набору сефадексів «G-10», «G-15» і «G-25 fine» (фірма «Pharmacia») для оцінки молекулярної маси фосфопептидів, виділених із загального фосфопротеїнового субстрату. В результаті проведених гель-фільтрацій було встановлено відсоток фосфопептидів, молекулярна маса яких попадає у наступні діапазони: менше 700 Да; від 700 до 1500 Да; від 1500 до 5000 Да; більше 5000 Да.

У розділі «Екологія» проаналізовано сучасний екологічний стан України, розглянуто питання забруднення довкілля, зокрема водного середовища в результаті діяльності підприємств. Описано заходи із зменшення забруднення стічних вод підприємствами молочної промисловості. Вказані заходи по утилізації відходів молокопереробних підприємств, окреслені шляхи використання вторинних продуктів переробки молока, зокрема сироватки і маслянки.

У розділі «Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях». Висвітлено питання охорони праці жінок, неповнолітніх та інвалідів на промислових підприємствах: зазначені основні особливості праці неповнолітніх, правове регулювання праці жінок; розглянуто стан фінансування охорони праці на підприємствах. Описано основні заходи по захисту працівників молочних підприємств від впливу шкідливих речовин.

## ВИСНОВКИ

1. В результаті проведених досліджень було виділено фосфопротеїновий субстрат із знежиреного коров'ячого молока шляхом осадження в ізоелектричні точки. Для повного відділення інших небілкових компонентів було проведено переосадження і проаналізовано фракційний склад субстрату. У ньому виявлено всі електрофоретично чисті фракції фосфопротеїнів коров'ячого молока:  $\alpha_{S1}$ -,  $\alpha_{S2}$ -,  $\beta$ - і  $\kappa$ -казеїни відповідно до сучасної класифікації.

2. Проведено протеоліз отриманого фосфопротеїнового субстрату в умовах, які відповідають процесам нормального травлення протеїнів молока: температура 37°C і рН середовища 7,9. Як ферментний препарат використано панкреатин. Встановлено, що найвища швидкість протеолізу спостерігається протягом перших 120 хв процесу. Із отриманого на 180-й хв. гідролізату виділялися фосфопептиди.

3. Проведено розділення отриманого прерарату фосфопептидів з використанням набору сефадексів. Встановлено, що основна частка виділених в запропонованих умовах фосфопептидів має молекулярну масу в межах 700-1500 Да – 50 %; 33, % припадає на фосфопептиди з молекулярною масою від 1500 до 5000 Да, що властиво для природних біологічно активних пептидів.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ РОБОТИ

1. Сторож Л.А., Маліцька Н.І., Процик Д.І., Юкало В.Г. Біотехнологія отримання та використання казеїнових фосфопептидів // Збірник матеріалів VII міжнародної науково-практичної конференції «Хімія, біо- і нанотехнології, екологія та економіка в харчовій та косметичній промисловості», Харків, 7-8 листопада 2019 р. – Харків, 2019. – С. 53-55.

## ВИСНОВКИ

1. В результаті проведених досліджень було виділено фосфопротеїновий субстрат із знежиреного коров'ячого молока шляхом осадження в ізоелектричні точки. Для повного відділення інших небілкових компонентів було проведено переосадження і проаналізовано фракційний склад субстрату. У ньому виявлено всі електрофоретично чисті фракції фосфопротеїнів коров'ячого молока:  $\alpha_{S1}$ -,  $\alpha_{S2}$ -,  $\beta$ - і  $\kappa$ -казеїни відповідно до сучасної класифікації.

2. Проведено протеоліз отриманого фосфопротеїнового субстрату в умовах, які відповідають процесам нормального травлення протеїнів молока: температура 37°C і рН середовища 7,9. Як ферментний препарат використано панкреатин. Встановлено, що найвища швидкість протеолізу спостерігається протягом перших 120 хв процесу. Із отриманого на 180-й хв гідролізату виділяли фосфопептиди.

3. Проведено розділення отриманого препарату фосфопептидів з використанням набору сефадексів. Встановлено, що основна частка виділених в запропонованих умовах фосфопептидів має молекулярну масу в межах 700-1500 Да – 50 %; 33, % припадає на фосфопептиди з молекулярною масою від 1500 до 5000 Да, що властиво для природних біологічно активних пептидів.

## АНОТАЦІЯ

Процик Д.І. Отримання біологічно активних фосфопептидів з протеїнів молока. – Рукопис.

Дослідження на здобуття освітнього ступеня «магістр» зі спеціальності 181 «Харчові технології». – Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Тернопіль, 2019.

Дипломна робота присвячена виділенню біоактивних фосфопептидів з гідролізатів фосфопротеїнів коров'ячого молока, отриманих за дії на них ферментного препарату тваринного походження «Панкреатин». Протеоліз фосфопроетїнів молока проводили в умовах, що моделюють процеси їх перетворення в шлунково-кишковому тракті. Гель-фільтрацією на сефадексах встановлено молекулярні маси отриманих фосфопептидів. Встановлено, що основна їх частка за цим показником відповідає відомим природним фосфопептидам.

**Ключові слова:** протеїни молока, протеоліз, фосфопептиди, гель-фільтрація.

## ANNOTATION

Protsyk D.I. Bioactive phosphopeptides obtaining from milk proteins. – Manuscript.

Rasearch for obtaining an educational degree «Master» in specialty 181 «Food Technologies». – Ternopil Ivan Puluj National Technical University, 2019.

The master's work is devoted to the isolation of bioactive phosphopeptides from cow's milk phosphoproteins hydrolysates, obtained by the action of animal origin enzyme «Pancreatin». Milk phosphoproteins proteolysis was performed in the conditions which are modeling the processes of their digestion in the gastrointestinal tract. The molecular masses of the obtained phosphopeptides were established by gel filtration on Sephadexes. It is confirmed that the major part of them according to this indicator corresponds to known natural phosphopeptides.

**Key words:** milk proteins, proteolysis, phosphopeptides, gelfiltration.