

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

**БЕРЕКЕТА ВІТА ПЕТРІВНА**

УДК 577. 122. 2

**ГІДРОЛІЗ ПРОТЕЇНІВ СИРОВАТКИ МОЛОКА ПРОТЕАЗАМИ ТВАРИННОГО  
ПОХОДЖЕННЯ**

181 «Харчові технології»

**Автореферат**  
дипломної роботи магістра

Тернопіль  
2019

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

**Керівник роботи:** доктор біологічних наук, професор  
**Юкало Володимир Глібович,**  
Тернопільський національний технічний університет  
імені Івана Пулюя

**Рецензент:** кандидат технічних наук, доцент кафедри  
обладнання харчових технологій  
**Зварич Наталя Миколаївна**  
Тернопільський національний технічний університет  
імені Івана Пулюя

Захист відбудеться 27 грудня 2019 р. о 9<sup>00</sup> годині на засіданні екзаменаційної комісії №18 у Тернопільському національному технічному університеті імені Івана Пулюя за адресою: м. Тернопіль, вул. Танцорова, 2, навчальний корпус №5, аудиторія №14.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми роботи.** Актуальність теми дипломної роботи полягає у тому, що отримувані гідролізати володіють низькою алергенністю, швидкою засвоюваністю організмом, в їх складі можуть бути присутні різні фізіологічно активні пептиди, необхідні для регулювання ряду важливих функцій організму, а також пептиди, здатні утворювати міцні координаційні зв'язки з іонами кальцію і значно покращувати ефективність їх всмоктування. Гідролізати протеїнів сироватки молока застосовують для дитячого харчування, харчування спортсменів, парентерального харчування та ін. Сироватковий протеїн прискорює відновлення після фізичного навантаження і зміцнює імунну систему, а також стимулює термогенез, сприяє розщепленню жирів і зменшує відчуття голоду. Гідролізат же багаторазово підсилює корисні властивості сироваткового протеїну, перераховані вище, оскільки володіє здатністю швидше підвищувати рівень амінокислот в крові, і до його складу входять біологічно активні пептиди, серед яких виявлено інгібітори ангіотензинперетворювального ензиму, опіодні пептиди — агоністи опіатних рецепторів, антимікробні пептиди, пептиди з імуномодуляторною та гіпохолестеролемічною дією, а також пептиди, що впливають на моторику кишечника. На властивості гідролізатів, перш за все, впливають нативні умови. Для отримання більшої кількості біоактивних пептидів потрібно максимально відтворити умови, що відбуваються при травленні.

**Мета роботи:** проведення гідролізу білків сироватки молока протеазами тваринного походження.

Для досягнення поставленої мети в роботі сформульовано і вирішено наступні завдання:

1. Порівняти протеолітичну активність досліджуваних ферментних препаратів.
2. Провести гідроліз білків сироватки протеазами тваринного походження та описати продукти протеолізу, що утворились через певні відрізки часу, фракційний склад та молекулярно-масовий розподіл поліпептидів і пептидів у ньому.
3. Визначити середній вміст продуктів протеолізу в кожному секторі хроматограми.
4. Визначити залишкову кількість нерозщепленого  $\beta$ -лактоглобуліну і  $\alpha$ -лактальбуміну після 120 хвилин гідролізу.

**Об'єкт та методи дослідження.** Основним об'єктом дослідження є процес гідролізу білків сироватки молока протеазами тваринного походження.

Методи виконання роботи: гель-фільтрація (на колонці з сефадексом G-50), експрес-електрофорез (в анодній системі однорідного поліакриламідного гелю) та спектрофотометричний метод (на спектрофотометрі).

**Наукова новизна отриманих результатів.** В ході роботи було визначено продукти і ступінь гідролізу концентрату сироваткових білків на 60-й і 120-й хвилинах різними протеолітичними препаратами. Дослідження також показують на відмінності у ступені розщеплення білкових фракцій різними протеолітичними препаратами. За результатами гель-фільтрації з трьох ензимних препаратів найвищий вихід низькомолекулярних пептидів отримано за дії панкреатину, що свідчить про

найвищу ймовірність утворення біоактивних пептидів. Вперше було встановлено умови протеолізу для утворення біологічно активних пептидів.

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримані результати можуть бути використані при виробництві гідролізатів сироваткових білків.

**Апробація.** Окремі результати роботи доповідалися й обговорювалися на 2 наукових конференціях: II Міжнародній студентській науково-технічній конференції «Природничі та гуманітарні науки. Актуальні питання.» (м. Тернопіль, ТНТУ ім. І. Пулюя, 25-26 квітня 2019 року) та V Міжнародній науково-технічній конференції «Стан і перспективи харчової науки та промисловості» (м. Тернопіль, ТНТУ ім. І. Пулюя, 10-11 жовтня 2019 року).

**Структура роботи.** Робота складається з пояснювальної записки та ілюстративного матеріалу презентації. Пояснювальна записка складається з вступу, 7 розділів, висновків, використаної літератури. Обсяг роботи: пояснювальна записка – 114 арк. формату А4, на яких 9 рисунків, 7 таблиць, та 108 найменувань використаних джерел, ілюстративний матеріал презентацій – 17 аркушів формату А4.

**У вступі** висвітлено мету і завдання роботи, коротко викладено актуальність теми та зроблено огляд результатів.

**У розділі «Огляд літератури»** проведено аналіз за літературними та іншими джерелами за такими питаннями як: «Загальна характеристика білків сироватки молока», «Використання протеїнів сироватки в харчових технологіях», «Гідролізати білків сироватки» та «Біологічно активні пептиди білків сироватки молока».

**У розділі «Матеріали і методи досліджень»** представлені матеріали та описано методи, що були використані при проведенні досліджень. Для визначення концентрації білків у розчинах використовували спектрофотометричний метод на спектрофотометрі при довжині хвилі 280 нм; для визначення протеолітичної активності також використовували спектрофотометричний метод; для аналізу складу протеїнів в концентраті сироваткових білків і відділення низькомолекулярних компонентів проводили гель-фільтрацію на сефадексі G-50; для визначення фракційного складу протеїнів, які не розщепилися в процесі гідролізу різними протеолітичними препаратами застосовували електрофорез.

**У розділі «Власні дослідження»** представлено результати досліджень продуктів протеолізу концентрату сироваткових білків і обговорено ці результати. Перед здійсненням протеолізу концентрату сироваткових білків було здійснено опис концентрату сироваткових білків на фракційний склад та молекулярно-масовий розподіл білків і пептидів у ньому. Залежно від об'єму елюції, хроматограму було поділено на три сектори. Фракції кожного сектору хроматограми об'єднували і визначали кількість протеїнів і пептидів спектрофотометричним методом. Було порівняно динаміку протеолізу концентрату сироваткових білків за дії різних протеолітичних препаратів. Гідроліз протеазами проводили при значенні водневого показника рН 7,9 і температурі 37 °С. Було проведено гель-фільтрацію продуктів протеолізу концентрату сироваткових білків на сефадексі G-50 та представлено результати на рисунках хроматограм. В кожному секторі хроматограми визначено середній вміст продуктів протеолізу. Проведено електрофорез в ПАГ протеїнових фракцій концентрату сироваткових білків для визначення фракційного складу протеїнів КСБ, які не розщепилися в процесі гідролізу різними протеолітичними

препаратами. Також у кожному випадку був здійснений денситометричний аналіз електрофореграми проби, відібраної на 120-й хвилині гідролізу.

У розділі «Обґрунтування економічної ефективності» розглянуто такі поняття як «раціональне використання», «ефективність виробництва», «термін окупності витрат». В цьому розділі обґрунтовано пояснено в чому полягає економічна ефективність виготовлення гідролізатів сироваткових білків.

У розділі «Охорона праці» висвітлено питання охорони праці щодо відповідальності посадових осіб і працівників за порушення законодавства про охорону праці; основних положень державного соціального страхування від нещасного випадку на виробництві та професійного захворювання.

У розділі «Безпека в надзвичайних ситуаціях» висвітлено питання про підвищення стійкості роботи об'єктів харчової галузі у воєнний час.

У розділі «Екологія» описанні чинники, що впливають на екологічну чистоту продуктів з вторинної молочної сировини, представлені вимоги до харчових продуктів, розглянуто питання забруднення довкілля, які можна уникнути при виробництві із вторинної молочної сировини (сироватки) на молочних підприємствах гідролізатів сироваткових білків.

## **ВИСНОВКИ**

При гідролізі 15 %-ого розчину КСБ (фермент тваринного походження : розчин КСБ - 1:20), при встановлених умовах (37 °С і рН 7,9) ензимними препаратами (хімотрипсин, трипсин і панкреатин) тривалістю 180 хв нами одержано близькі значення концентрації продуктів гідролізу, розчинних у 5 % трихлороцтовій кислоті. Більша частина продуктів гідролізу утворювалася за перші 60 хв. Гідроліз практично закінчувався до 120 хв.

За допомогою гель-фільтрації на колонці з сефадексом G-50 ми визначили продукти і ступінь гідролізу КСБ на 60 і 120 хвилинах. Вони складали відповідно: для хімотрипсину — 138±10,3 мг (64%) і 139±11,4 мг (67%); для трипсину — 125±7,6 мг (59 %) і 139±12,1 мг (67%); для панкреатину - 142±12,5 мг (65%) і 151±15,7 мг (70 %). Також поділом хроматограм на три сектори ми дослідили вміст продуктів гідролізу в кожному із секторів. Найбільше низькомолекулярних пептидів (25 %), з молекулярною масою менше 1500 Да, отримана при дії на КСБ панкреатину.

Електрофоретичні дослідження гідролізатів КСБ вказують на різний вплив протеолітичних препаратів на різні протеїнові фракції. Найвищий ступінь гідролізу фракцій β-лактоглобуліну і α-лактальбуміну показав панкреатин, він становив приблизно 80 %.

## **СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ РОБОТИ**

1. Олесницька В. Гідроліз протеїнів сироватки молока протеазами тваринного походження: Матеріали II Міжнародної студентської науково-технічної конференції / Тернопіль: Тернопільський національний технічний університет ім. І. Пулюя (м. Тернопіль, 25-26 квітня 2019 р.), 2019. – 111 с.
2. Юкало В. Г. Гідроліз протеїнів сироватки молока ензимними препаратами з підшлункової залози / Володимир Юкало, Катерина Дацишин, Віта Олесницька

// Збірник тез доповідей V міжнародної науково-технічної конференції „Стан і перспективи харчової науки та промисловості“, 10-11 жовтня 2019 року. — Т. : ТНТУ, 2019. — С. 128. — (Харчова хімія, біохімія, біотехнологія та функціональні харчові продукти).

## АНОТАЦІЯ

**Берекета В.П.** Гідроліз протеїнів сироватки молока протеазами тваринного походження. 181 «Харчові технології» – Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя. – Тернопіль, 2019.

В ході виконання дипломної роботи було проведено гідроліз протеїнів сироватки молока протеазами тваринного походження, а саме трипсином, хімотрипсином, панкреатином.

Було порівняно динаміку гідролізу концентрату сироваткових білків за дії різних протеолітичних препаратів. Виявлено, що найбільшою протеолітичною активністю, серед використаних в досліді препаратів, володіє хімотрипсин. Проведено електрофоретичний аналіз фракційного складу протеїнів, завдяки якому представлений типовий поділ білкових фракцій сироватки молока. Визначено молекулярно-масовий розподіл отриманих поліпептидів і пептидів під час гідролізу в кожному секторі хроматограми завдяки проведенню гель-фільтрації реакційної суміші на сефадексі G-50.

Проведено електрофорез в ПААГ протеїнових фракцій концентрату сироваткових білків для визначення фракційного складу проб, які брали на встановлених етапах гідролізу (0 хв, 60 хв, 120 хв і 180 хв). Також розраховано залишкову кількість нерозщепленого  $\beta$ -лактоглобуліну і  $\alpha$ -лактальбуміну після 120 хвилин гідролізу.

**Ключові слова:** ГІДРОЛІЗ БІЛКІВ, ЕЛЕКТРОФОРЕЗ, ГЕЛЬ-ФІЛЬТРАЦІЯ, ГІДРОЛІЗАТИ ПРОТЕЇНІВ СИРОВАТКИ МОЛОКА, БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ ПЕПТИДИ.

## ANNOTATION

**Bereketa V.P.** Lactoserum proteins hydrolysis by proteases of animal origin. 181 «Food technology» – Ternopil Ivan Puluj National Technical University. – Ternopil, 2019.

During the course of diploma milk whey protein`s hydrolysis was conducted with proteases of animal origin, namely trypsin, chymotrypsin, pancreatin.

The dynamics of hydrolysis of whey protein concentrate by the action of various proteolytic drugs was compared. Chymotrypsin was found to have the highest proteolytic activity among the drugs used in the experiment. The electrophoretic analysis of the fractional composition of proteins was carried out, by which a typical separation of the protein fractions of milk whey was presented. The molecular weight distribution of the resulting polypeptides and peptides during hydrolysis in each sector of the chromatogram was determined by gel filtration of the reaction mixture on Sephadex G-50.

Conducted electrophoresis in PAAG protein fractions of whey protein concentrate to determine the fractional composition of samples taken at the established stages of hydrolysis (0 min, 60 min, 120 min and 180 min). Also, the residual amount of unbranched  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin after 120 minutes of hydrolysis was calculated.

**Keywords:** PROTEIN HYDROLYSIS, ELECTROPHORESIS, GEL FILTRATION, MILK PROTEIN WHEY PROTEIN HYDROLYSATES, BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES.