

ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»

На правах рукописи



Леонтьева Светлана Александровна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ
ПОЛУЧЕНИЯ БУРСАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ
С ОЦЕНКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
В СОСТАВЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ**

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Специальность 4.3.5 – Биотехнология продуктов питания

и биологически активных веществ

Научный руководитель:

кандидат ветеринарных наук, доцент

Кольберг Наталья Александровна

Екатеринбург – 2022

Содержание

Введение.....	4
1 Аналитический обзор научно-технической литературы.....	10
1.1 Молозиво как источник биологически активных веществ иммуномодулирующего действия.....	10
1.2 Пептиды с иммуномодулирующими свойствами: сырье и технологии выделения.....	16
1.3 Фабрициева сумка как источник пептидов	31
Заключение по обзору литературы.....	33
2 Организация эксперимента, объекты и методы исследования.....	35
2.1 Организация эксперимента	35
2.2 Объекты и методы исследований	37
3 Результаты исследований и их обсуждение	51
3.1 Технология выделения пептидов из фабрициевой сумки.....	51
3.1.1 Определение требований к фабрициевой сумке цыплят-бройлеров как к сырью для получения пептидов и разработка технологии ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят- бройлеров для последующего выделения пептидов	51
3.1.2 Влияние технологических режимов гидролиза фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на молекулярное распределение фракций биопептидов.....	55
3.2 Оценка биологической активности пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров	64
3.2.1 Оценка токсичности пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров.....	64
3.2.2 Изучение иммуномодулирующего действия пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки	

цыплят-бройлеров, на мышах линий C57BL/6, C57BL/10, C3H, SJL с экспериментальным синдромом иммунодефицита.....	72
3.2.3 Оценка биологического действия пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят- бройлеров, на цитотоксическую активность и неспецифическую резистентность к инфекциям	85
3.3 Практическое применение пептидов в технологии специализированной пищевой продукции	91
Заключение	101
Список литературы	104
Приложение А Документы о внедрении результатов исследования.....	126
Приложение Б Технические условия 1544240-018-02069214-2021	127
Приложение В Протоколы лабораторных испытаний.....	128

Введение

Актуальность темы исследования. Направление фундаментальных и поисковых научных исследований Российской Федерации на ближайшее десятилетие, согласно распоряжению Правительства РФ от 31 декабря 2020 г. № 3694-р, предполагает разработку инновационных технологий, оценку безопасности и эффективности использования новых специализированных пищевых продуктов, биологически активных веществ, а также продуктов на их основе. В связи с этим перспективными являются исследования, направленные на совершенствование биотехнологических способов выделения и дальнейшего практического применения иммуноактивных пептидов. Согласно сложившимся научным представлениям, практически все системы организма животных и птиц могут служить источником для получения пептидов с различной степенью активности в отношении иммунной системы. Выраженным иммуномодулирующим действием обладают пептиды, выделенные из органов лимфоидной ткани животных и птиц, в частности тимуса и селезёнки.

Вместе с тем представляются актуальными исследования, посвящённые поиску нового сырья животного происхождения, разработке технологий выделения из него пептидов, обладающих выраженными свойствами модуляторов иммунологических реакций специфического и неспецифического иммунитета, и дальнейшему практическому использованию в составе специализированной пищевой продукции.

Не менее важным направлением научных исследований в пищевой биотехнологии является переработка молозива коров как дополнительного источника белка, иммуноглобулинов и других биологически активных веществ. В России сбор и переработка молозива практически не проводится. Как правило, секрет молочных желёз коров после отёла замораживают и выпаивают заболевшим телятам. За рубежом, в частности в США и Франции, молозиво широко используется для производства продуктов иммуномодулирующего действия, которые не только отправляются на внутренний рынок, но и являются предметом экспорта.

Степень разработанности темы исследования. Существенный вклад в раскрытие вопросов ферментативного гидролиза сырья для дальнейшего выделения, идентификации и исследования биологической активности пептидов с целью использования их в производстве пищевой продукции, в том числе функционального и специализированного назначения, вносят академики РАН А. Б. Лисицын, Л. В. Римарева, И.М. Чернуха, члены-корреспонденты РАН А. Ю. Просеков, Е.М. Серб, профессора Л. В. Антипова, О. О. Бабич, Т. М. Гиро, Т. К. Каленик, Л. С. Кудряшов, О. Я. Мезенова, О. В. Кригер, зарубежные учёные L. Bose, M. L. Catherine, K. Raja, E. Harold, F. Xiuli и др. Исследованию химического состава молозива коров посвящены работы G. Brinkworth, J. Buckley, R. Mehra, L. Pellegrino и других учёных.

Цель и задачи работы. *Цель работы* – разработка технологии получения пептидов с иммуномодулирующими свойствами путем ферментативного гидролиза фабрициевой сумки (бурсы) цыплят-бройлеров и их практическое применение в составе специализированной пищевой продукции.

Задачи:

- установить требования к фабрициевой сумке цыплят-бройлеров как к сырью для получения пептидов;
- определить рациональные параметры ферментативного гидролиза и выделения коротких пептидов из фабрициевой сумки цыплят-бройлеров;
- провести оценку токсичности, цитотоксичности и иммуномодулирующего действия пептидов на мышцах линий C57BL/6, C57BL/10, C3H, SJL, культурах клеток L929, J774.1A, HeLaS3, K562, HCT116 и MCF-7, пролиферативной активности лимфоцитов у иммунодепрессивных лабораторных мышей линии BALb/c на фоне экспериментальной сальмонеллёзной инфекции;
- дать оценку качества, определить пищевую ценность и усовершенствовать технологию сушки молозива коров и научно обосновать его использование в составе специализированной пищевой продукции;

– разработать белковый сухой напиток для питания спортсменов с использованием сухого молозива коров и пептидов, выделенных из фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, определить регламентируемые показатели качества.

Научная новизна. Диссертационная работа содержит элементы научной новизны, соответствующие п. 6, 7, 9, 15 и 25 Паспорта специальности ВАК РФ 4.3.5.

Обосновано применение фабрициевой сумки как источника иммуномодулирующих компонентов – бурсальных пептидов для производства специализированной пищевой продукции на примере сухого белкового напитка для питания спортсменов (п. 6 Паспорта специальности ВАК РФ 4.3.5).

Обоснованы рациональные технологические режимы ферментативного гидролиза фабрициевой сумки, обеспечивающие выделение пептидов с молекулярной массой 27–18 кДа (п. 7 и 15 Паспорта специальности ВАК РФ 4.3.5).

Впервые проведена оценка биологической активности пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров. Доказано иммуностропное действие бурсальных пептидов на мышцах линий C57BL/6, C57BL/10, C3H, SJL с экспериментальным синдромом иммунодефицита. Установлено отрицательное влияние пептидов на жизнеспособность опухолевых клеток MCF-7, показана возможность активизации неспецифического иммунитета мышечными бурсальными пептидами на фоне экспериментальной сальмонеллезной инфекции и стимуляции пролиферативной активности лимфоцитов иммунодепрессивных лабораторных мышечных линий BALb/c (п. 25 Паспорта специальности ВАК РФ 4.3.5).

Обоснован состав белкового сухого напитка для питания спортсменов, включающего пептиды, выделенные из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, и иммуноглобулины сухого молозива коров (п. 9 Паспорта специальности ВАК РФ 4.3.5).

Теоретическая и практическая значимость работы. *Теоретическая значимость* работы заключается в расширении научных знаний в области получения и применения пептидов, выделенных из сырья животного происхождения, в качестве неспецифического стимулятора иммунной системы и снижения жизнеспособности опухолевых клеток.

Практическая значимость работы заключается в:

- разработке технологии получения пептидов путём ферментативного гидролиза фабрициевой сумки цыплят-бройлеров;
- разработке рецептуры и технологии напитка для питания спортсменов на основе сухого молозива коров и пептидов, выделенных из гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров;
- усовершенствовании технологии сушки молозива.

Разработаны технические условия и технологическая инструкция (ТУ и ТИ) 1544240-018-02069214-2021 «Напиток белковый сухой для питания спортсменов» (предприятие-разработчик – ООО «Национальная водная компания «Ниагара») (приложение Б). Проведены производственные испытания и внедрение на ООО «Национальная водная компания «Ниагара» (г. Челябинск).

Результаты теоретических и экспериментальных исследований используются в учебном процессе на кафедре пищевой инженерии ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет» при подготовке бакалавров, обучающихся по направлению 19.03.01 «Биотехнология».

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования базировалась на анализе научно-технической литературы, посвящённой тематике экспериментов, постановке и достижении цели и реализации поставленных задач, обосновании объектов и методов исследований. При выполнении диссертационной работы использовались общепринятые и специальные методы, в том числе методы ионообменной хроматографии, гель-хроматографии (гель-фильтрация), электрофореза в полиакриламидом геле, методы иммуногистологии и биологии, используемые при моделировании экспериментального иммунодефицита и заражении сальмонеллёзной инфекцией мышей, оценке жизнеспособности культур клеток, в том числе МТТ-тест и спектрофотометрическое сканирование, и др.

Положения, выносимые на защиту:

- технология выделения пептидов из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров;

– результаты оценки токсичности, цитотоксичности и иммуномодулирующего действия бурсальных пептидов и пролиферативной активности лимфоцитов у иммунодепрессивных мышей линии BALb/c, доказывающие безопасность и эффективность применения;

– состав, технология и регламентируемые показатели качества белкового сухого напитка для питания спортсменов, выработанного с использованием пептидов и сухого молозива.

Степень достоверности и апробация работы. Анализ полученных данных выполнен в пакете статистических программ Statistica 9.0. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) \pm стандартная ошибка среднего (m). Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна – Уитни (Mann–Whitney U-test). Для проверки гипотезы об однородности двух зависимых выборок использовали непараметрический критерий Уилкоксона (Wilcoxon signed-rank test). При проверке статистических гипотез использовали 5 %-й уровень значимости.

Апробация результатов работы. Основные положения и результаты работы представлены на научно-практических мероприятиях различного уровня, в том числе: Всероссийская (национальная) научно-практическая конференция «Научно-инновационные технологии как фактор устойчивого развития агропромышленного комплекса» (Курган, 2020); Всероссийская (национальная) конференция «Актуальные направления научных исследований: технологии, качество и безопасность» (Кемерово, 2020); VIII Международная научно-практическая конференция «Инновации в пищевой промышленности и общественном питании» (Екатеринбург, 2021); 10-й Международный научно-практический симпозиум «Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов», посвящённый 90-летию ВНИИПБТ (материалы опубликованы в журнале «Пищевая промышленность»); Международная научно-практическая конференция «Современная наука в условиях модернизации процессов: проблемы, реалии, перспективы» (Уфа, 2021); Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы науки и техники» (Уфа, 2021); Международная

научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Пищевые инновации и биотехнологии» (Кемерово, 2022); СХV Международная научно-практическая конференция «Инновационные подходы в современной науке» (Москва, 2022).

Публикации. По результатам исследований опубликовано 16 научных работ, из них 8 статей в научных изданиях, включенных в Перечень ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Основное содержание работы изложено на 125 страницах, состоит из трёх глав, заключения, списка литературы и приложений; включает 26 таблиц и 28 рисунков. Список литературы насчитывает 188 источников, из них 90 на иностранных языках.

1 Аналитический обзор научно-технической литературы

1.1 Молозиво как источник биологически активных веществ иммуномодулирующего действия

Молозиво, или колострум (лат. *colostrum*), – секрет, выделяемый молочными железами женских особей млекопитающих в начале лактации, до появления материнского молока (в первые 5–7 сут после родов) [46; 47]. Молозиво существенно отличается от молока, продуцируемого во время установившейся лактации. Молозиво богато ферментами. В нем содержатся нейтрофильные лейкоциты, малые и средние эпителиальные клетки и другие форменные элементы.

Согласно современным представлениям, молозиво начинает образовываться в молочной железе коров в конце периода стельности. В этот период вследствие изменения биосинтеза гормонов передней доли гипофиза и половых гормонов наблюдаются развитие альвеолярно-дольчатых структур молочной железы, пролиферация и дифференциация её клеток. Тканевые препараты, введённые здоровым животным, способны существенно активизировать ряд обменных процессов в их организме, что может оказать благотворное влияние на физико-химический состав молозива коров [66].

Молозиво является источником неспецифических протеинов (инсулин, лактоферрин, антистафилококковый фактор, инсулиноподобный ростовой фактор). Данные белки обеспечивают сопротивляемость организма к инфекционным заболеваниям. Одну из главных ролей среди белков молозива играют перевариваемые альбумины и глобулины. Молозиво первой дойки, или «0-часовое молозиво», является истинным молозивом, так как содержит наибольшее количество белков, метаболически активных веществ, ростовых факторов и гормонов, в то время как содержание лактозы в нем минимально. Через 6 ч после отёла компонентный состав молозива

начинает значительно меняться, содержание биологически значимых сывороточных белков в нём уменьшается в 2 раза. Коровье молозиво – это источник широкого спектра биологически и функционально значимых компонентов, обладающих иммуномодулирующими, антибактериальными и противовирусными свойствами [4].

Переработка первичного молока, или молозива, и использование его биологически активных компонентов является одним из перспективных направлений развития биотехнологии функциональных пищевых продуктов. Молозиво является природным концентратом белков, доля которых по отношению к общему содержанию сухих веществ может превышать 60 %. Для первичного молока характерен специфический аминокислотный, липидный, витаминный и минеральный состав. Выделяют ряд компонентов молозива, обеспечивающих нормализацию функционирования организма. Защитные свойства первичного молока обусловлены наличием в нём иммуноглобулинов, лейкоцитов, лактоферрина и лизоцима. Регуляторный эффект связан с присутствием в молозиве пролина, цитокинов, интерлейкина-10, лимфокинов, антигиогенина. К функциональным компонентам молозива относят ростовые факторы (пролактин, эпителиальный, фибробластный ростовые факторы и др.), нуклеотиды, пероксидазные ферменты, ингибиторы протеаз. По мере дальнейшего изучения состава и свойств первичного молока выявляются новые данные о биологических свойствах как отдельных его компонентов, так и комплексной взаимосвязанной системы [3].

В связи с повышенным содержанием иммуноглобулинов, сывороточных белков и природных антиоксидантов (селен, цинк, витамины А и Е) коровье молозиво, или первичное молоко, относят к перспективным источникам биологически ценных гидролизатов [119].

Важнейшей характеристикой молозива является его белковый состав. Белковые фракции молозива как пластический материал идут на построение систем и органов растущего организма, а также обеспечивают его защитную функцию. Белки молозива многочисленны, что обуславливает многообразие их функций и определяет его биологическую роль. В основном белки молозива представлены казеином и сывороточными белками. Доля сывороточных белков в молозиве первого удоя

составляет более 70 % от массы всех протеинов. Главная роль в создании колострального иммунитета принадлежит глобулиновой фракции белков и иммуноглобулинам [25; 29; 49; 139].

Коровье молозиво перспективно использовать в качестве сырья для производства функциональных продуктов, так как оно содержит в более высоких концентрациях, чем обычное молоко, белки, жиры, иммунные факторы, витамины и минералы, но в меньшей концентрации – лактозу. Особое внимание стоит уделить пептидам молозива, получаемым с помощью ферментативного гидролиза, так как они обладают полезными биологическими свойствами [129].

Следует отметить, что в молозиве повышено содержание лактоферрина (ЛФ) – белка с широким спектром физиологических свойств. В связи с этим целесообразным является получение ферментативных гидролизатов молозива, которые содержат ЛФ и расщепленные белки-аллергены. Для получения ферментативных гидролизатов с заданными свойствами (пептидный профиль, биологические активности) используют различные эндо- и экзопептидазы, среди которых можно выделить ферменты микробного (алкалаза, нейтраза, флейворзим), растительного (папаин, фицин) и животного (пепсин, трипсин) происхождения [132].

Кроме элементов питания (белки, жиры, макро- и микроэлементы), в молозиве содержатся вещества, обеспечивающие защитную функцию организма от воздействия патогенной микрофлоры: иммуноглобулины (антитела), лизоцим, функционально активные лейкоциты и лимфоциты. Попадая в организм, данные вещества формируют колостральный иммунитет. Основным условием формирования качественного иммунитета является качество молозива, время выпаивания после рождения и температура выпаивания [19; 32; 33; 50].

По оценкам экспертов, одним из инновационных направлений развития пищевой биотехнологии является разработка биотехнологических подходов к производству пробиотиков, синбиотиков, заквасок, новых штаммов молочнокислых и других технологических микроорганизмов, микробных консорциумов с заданными биологическими свойствами и оптимизированными технологическими характеристиками [90]. Перспективным и актуальным направлением в молочной отрасли

является создание молочных биопродуктов, обогащённых молочнокислой микрофлорой и пропионовокислыми бактериями. Молочнокислые бактерии, выполняющие защитную и детоксицирующую функцию в организме человека, интенсивно используются в производстве пробиотических продуктов, синбиотиков; продуктов, нетрадиционно обогащённых молочнокислыми бактериями (таких как мороженое, соевый йогурт, шоколад, овощные лактоферментированные соки), натуральных пищевых консервантов, применяются в медицине как лечебные средства [15].

Биологическое действие колostrума – выраженное иммунопротекторное (особенно в отношении защиты от инфекции слизистых желудочно-кишечного тракта и дыхательной системы), иммунорегулирующее при аутоиммунных заболеваниях и аллергических состояниях, защищающее и восстанавливающее слизистую желудочно-кишечного тракта, питательное, регенерационное, омолаживающее [84].

Колostrум является натуральным источником всех необходимых компонентов для создания иммунитета. Биологически активные вещества, содержащиеся в коровьем колostrуме, способствуют: восстановлению иммунитета; восстановлению работы кишечника и желудка; укреплению нервной системы; обновлению клеток головного мозга; улучшению эмоционального тонуса и настроения; повышению жизнеспособности и работоспособности; замедлению процесса старения; защите от заболеваний кишечника и желудка, сердечно-сосудистой системы, дыхательных путей, диабета, аллергии, остеопороза и ряда других заболеваний. Колostrум содержит минимум 37 иммунных факторов и 8 факторов роста, которые помогают организму победить заболевания и способствуют хорошему здоровью и долголетию [84; 153]. Кроме того, молозиво имеет богатый витаминный и минеральный состав: так, содержание α -каротина в нем в 50–100 раз больше, чем в обычном питьевом молоке.

Белки и иммуноглобулины попадают в молозиво из крови коров, при этом их молекулярная структура при переходе в молочную железу не меняется и по составу иммунных белковых фракций сыворотка крови практически не отличается от сы-

воротки молозива. Таким образом, белки и иммуноглобулины, циркулирующие в крови матери, попадают в молозиво [96].

Согласно классификации ВОЗ (1964) иммуноглобулины подразделяются на пять классов: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD. При этом наиболее доступны для широкого изучения первые три класса. Иммуноглобулины различаются между собой по первичной структуре, физико-химическим свойствам и антиген-специфичности. На содержание иммуноглобулинов в молозиве, их функциональные возможности влияет большое количество генотипических и паратипических факторов [82].

Плотность молозива имеет высокую положительную корреляцию с содержанием в нем иммуноглобулинов. Эта особенность положена в основу методики определения содержания иммуноглобулинов с использованием приборов «Лактодинсиметр» и «Рефрактометр».

Иммуноглобулины играют главную роль в формировании гуморального иммунитета. Общеизвестно, что более 80 % иммуноглобулинов поступают в молозиво из сыворотки крови коровы. Для оценки иммунного статуса молозива выделяют три класса иммуноглобулинов – IgG, IgA, IgM.

В своих трудах М. Conneely и др. [114] отмечают, что в структуре иммуноглобулинов молозива доля IgG наибольшая, при этом она отрицательно коррелирует с величиной удоя. Установлено, что у коров разных пород в молозиве первого удоя доля IgG составляет 80–86 %, IgA – 10–13 %, IgM – 2–6 % [36]. Иммуноглобулины класса IgM всасываются в неизменном виде примерно 16 ч, IgA – 22 ч, IgG – 27 ч [59].

Молозиво значительно отличается от обычного молока, так как является высокоэнергетической, биологически и минерально полноценной, а также легко усвояемой не устоявшейся системой пищеварения. Многолетние научные исследования доказали, что молозиво богато иммуноглобулинами и содержит в своём составе огромное количество белков, жиров, минералов и витаминов, чем цельное и переходное молоко. Во время исследования телята из опытных групп показали высокие среднесуточные приросты живой массы в молозивный период, с 10-го по 20-й день первого месяца жизни и в целом за первый месяц выращивания [26].

Протеолитические ферменты выполняют ключевую роль в белковом обмене живых организмов, принимая активное участие как в распаде, так и в образовании биологически важных белков и пептидов – ферментов, гормонов, структурных белков, белков крови, молока, молозива и т. д. В настоящее время установлено участие протеолитических ферментов в механизме секреции белковых веществ, в защитных реакциях организма и других жизненно важных процессах. В связи с этим особое значение придаётся изучению биологических механизмов регуляции протеолитической активности. Так, установлено три основных способа регуляции активности протеолитических ферментов у живых организмов. Таким образом, ингибиторы ферментов в организме животных связаны с регулирующим влиянием на обмен веществ. Это касается не только эндогенных ингибиторов протеаз, но и экзогенных, поступающих с пищей. В связи с этим большое значение приобретает изучение состава и качества молозива [63; 64].

В настоящее время накоплен обширный материал по изучению способов использования молозива и его фракций в виде биологически активных добавок, а также обогащающих компонентов функциональных продуктов [119].

Как показано выше, в состав молозива и молока входят вещества, необходимые для установления всех синтетических процессов в организме. Больше того, накопленные наукой факты позволяют рассматривать молоко как биологическую жидкость, которая в определённой степени, подобно крови, участвует в обмене веществ, являясь связующим звеном между материнским организмом и новорождённым в смысле продолжения функции матки в постфетальном периоде.

Несмотря на определённые успехи в изучении состава молозива и молока, остаётся много неясностей относительно роли некоторых микрокомпонентов в питании новорождённых, влиянии их на состояние здоровья, скорость роста и развитие организма [63]. Несмотря на многочисленные исследования по изучению влияния различных факторов на качество молозива коров как у нас в стране, так и за рубежом, тема остаётся до настоящего времени актуальной [7].

1.2 Пептиды с иммуномодулирующими свойствами: сырье и технологии выделения

Пептиды – семейство веществ, молекулы которых построены из двух и более остатков аминокислот, соединённых в цепь пептидными (амидными) связями $-C(O)NH-$. Обычно под этим термином подразумеваются пептиды, состоящие из α -аминокислот, однако не исключаются пептиды, полученные из любых других аминокарбоновых кислот; [5; 23; 53; 127; 141; 157; 181].

В мировой фармацевтике появилось много новых препаратов пептидной природы [28; 92; 93]. Эти препараты привлекают внимание своим природным происхождением, высокой эффективностью, возможностью использования в малых дозах, отсутствием побочных реакций. Большой интерес представляет изучение влияния пептидов на стволовые клетки с целью увеличения ресурса организма до генетически запрограммированного предела жизни [105; 107; 170]. Среди таких препаратов важное место занимают лекарственные средства на основе пептидных комплексов, выделенных из органов и тканей животных [86].

Биологически активные пептиды инертны в исходных белковых цепях, но могут генерироваться протеолитическим сбраживанием. Они способны проходить через кишечник и поступать в кровоток, где они могут выполнять различные биологические функции. Биоактивные пептиды были рекомендованы в качестве профилактических и лечебных веществ при различных заболеваниях [151]. Антимикробные, ангиотензин-превращающие ферменты (АПФ) и антиоксидантные характеристики уже зарегистрированы в различных биологически активных пептидах [133].

Антибактериальные пептиды пищевого происхождения являются многообещающей альтернативой вредным химическим консервантам и могут быть безопасно использованы для сохранения пищевых продуктов [161]. Имеются многочисленные сообщения о биоактивных пептидах с антимикробной активностью из молочных белков и лактоферрина [152]. Лактенин был первым противомикробным средством, выделенным из гидролизата сычужного фермента молока.

Биоактивные пептиды (БАП) представляют собой белки, которые положительно влияют на здоровье человека посредством определённых клеточных метаболических процессов и, следовательно, выступают как биологически активные компоненты [100]. БАП обычно состоят из 2–20 аминокислотных остатков, которые могут быть получены путём микробной ферментации и гидролиза белка.

Белковые предшественники БАП можно классифицировать по растительному, морскому и животному происхождению. В нескольких работах изучались терапевтические свойства БАП, полученных из морских источников (морской конёк, устрицы, лосось и рыба) и других животных источников, таких как мясо, мышцы, яйца и молоко [180]. Однако последние исследования в области технологии переработки сырья и питания человека сосредоточены на растительных белках как значительном источнике биоактивных соединений пищевого происхождения [135]. Среди этих биоактивных соединений БАП пищевого происхождения являются потенциально активными компонентами, которые можно использовать для разработки нутрицевтиков и функциональных пищевых продуктов на основе их предполагаемой многочисленной пользы для здоровья, а также их безопасности [173]. БАП неактивны, когда существуют в качестве элемента родительского белка, и должны высвободиться путём гидролиза пептидных связей [110; 166]. БАП считаются компонентами, которые могут взаимодействовать и регулировать биологические функции конкретных клеточных рецепторов и биомолекул [116; 135]. Сообщалось о нескольких потенциальных свойствах БАП, подтверждённых исследованиями на животных, культурах клеток и *in vitro*, включая антиадгезивные, противораковые, антидиабетические, липидоснижающие, иммуномодулирующие, противовоспалительные, антиоксидантные и антигипертензивные свойства [174; 179; 185]. Эти свойства в основном зависят от размера и молекулярной массы пептида, а также последовательности и типа входящих в него аминокислот [98; 130; 147].

Антиоксидантные характеристики пептидов основаны на их гидрофобной природе, структурной конформации и составе аминокислоты. Например, валин, треонин, фенилаланин, изолейцин, лейцин, глицин, лизин, цистеин, метионин, ги-

стидин, тирозин, глутаминовая кислота и пролин положительно влияют на антиоксидантную активность пептидов [131; 156; 178].

По структурным характеристикам антимикробные БАП являются амфипатическими, основными (богатыми аргинином или лизином) и небольшими (содержащими от 20 до 46 аминокислот) [99; 177].

Что касается механизма действия, то антиканцерогенные свойства БАП могут быть связаны с ингибированием внутриклеточной передачи сигналов раковых клеток, модуляцией иммунного ответа, ингибированием топоизомераз, клеточной адгезией и нарушением структуры клеточной мембраны [112]. Пептиды, которые ингибируют активность АПФ, выполняют жизненно важные физиологические функции по поддержанию нормального уровня жидкости в организме, солевого баланса и артериального давления [130].

Иммуномодулирующие свойства БАП в основном зависят от регуляции и контроля цитокинов, а также стимуляции выработки антител и развития иммунной системы [180]. Следовательно, различные БАП и белки пищевого происхождения могут улучшить здоровье человека, предотвращая некоторые недуги и смягчая хронические заболевания [111].

БАП могут быть получены с использованием ферментативного гидролиза пищевых белков для высвобождения пептидных последовательностей, которые впоследствии могут быть подвергнуты постгидролизной обработке для отделения неактивных пептидов от активных [180]. Эти пептиды встроены в первичную структуру белков животных и растений в виде неактивных последовательностей и могут высвобождаться во время пищеварения в желудочно-кишечном тракте, протеолиза, катализируемого ферментами *in vitro*, и ферментации. Хотя массовое производство БАП возможно организовать на основе ферментативного гидролиза белков *in vitro*, также изучается технология рекомбинантной ДНК [117; 167], в частности, для производства белков и длинноцепочечных пептидов [102; 109].

АПФ участвует в ренин-ангиотензиновом механизме и важен для коррекции артериального давления. АПФ также подавляет активность фермента, разрушающего брадикинин, который обладает сосудорасширяющим действием [126].

Различные ингибиторы АПФ были обнаружены в белках, полученных из пищи, включая мясо, молоко, соевые бобы [149].

Иммуномодуляторы – это вещества, преимущественно влияющие в той или иной степени на функциональную систему иммунного гомеостаза и характеризующиеся тропностью и специфичностью к иммунной системе. С различной степенью интенсивности на иммунную систему могут влиять самые различные вещества (например, пищевые добавки, различного рода цитостатики) и воздействия (например, ионизирующее излучение). Однако такие модуляторы не обладают тропностью к системе иммунитета и преимущественным действием на её параметры и в относительно равной степени действуют на различные системы организма, в том числе и на иммунную. Поэтому они не могут относиться к обозначенной выше категории иммуномодуляторов и являются веществами, неспецифически влияющими на иммунную систему, способными оказывать депрессивное или, наоборот, стимулирующее действие на её количественные и (или) функциональные параметры [72]. К иммуномодуляторам должны относиться биологически активные вещества, модулирующие, т. е. изменяющие иммунный ответ в нужном направлении. Следовательно, если у данного организма наблюдается иммунное расстройство с угнетением какого-либо звена иммунной системы, то иммуномодулирующее средство должно усилить (активировать) его до уровня физиологической нормы. Напротив, в случае патологического повышения показателей иммунного статуса иммуномодулирующее средство должно избирательно понижать (подавлять) это звено иммунной системы до физиологической нормы (например, при аутоиммунных заболеваниях). Хотя в арсенале иммунофармакологии есть вещества, избирательно действующие на различные звенья иммунной системы [34], которые по определению являются иммуномодуляторами, идеального иммуномодулирующего лекарственного препарата, одновременно действующего на различные патологически изменённые структуры и восстанавливающего их до нормы, пока не существует. В будущем, возможно, удастся создать такие универсальные молекулярные комплексы (би- или поливалентные), исключительно селективно действующие на главную иммунорегуляторную клетку [87].

Существует также точка зрения, что которой иммуномодуляторы – это средства, которые приводят патологически изменённый иммунный ответ в физиологическую норму. На российском рынке и в странах ближнего зарубежья представлены и продаются около сотни субстанций под общим наименованием «иммуномодулятор» [89].

Иммуномодулирующая терапия – воздействие на нарушенный или нормальный иммунитет через регуляторные механизмы. Её осуществляют с помощью иммуномодуляторов – препаратов, способных в зависимости от дозы и способа применения стимулировать или угнетать иммунитет либо активировать одни элементы иммунной системы и подавлять другие [38].

Население в развитых странах стремится к здоровому образу жизни. В связи с этим индустрия, производящая продукты питания, переориентировалась на производство товаров с новыми качествами, нацеленными на улучшение здоровья. В современной медицине уделяется большое внимание связи между состоянием здоровья человека и структурой питания, которое может служить как средством насыщения и источником энергии, так и фактором физиологического состояния частей организма, способствуя повышению иммунного ответа на различные неблагоприятные воздействия окружающей среды [10].

В настоящее время вещества, способные позитивно или негативно модулировать иммунореактивность организма и повышать его естественную резистентность – способность противостоять той или иной инфекции или инвазии, называют иммуномодуляторами. Изменение иммунореактивности в ответ на введение иммуномодулятора зависит от множества факторов (химическая структура иммуномодулятора, доза, способ и схема введения, состояние организма и т. д.). Показанием для применения иммуномодулятора служит любая иммунологическая недостаточность (иммунодефицит), вызванная острой или хронической инфекцией, стрессом, антибиотико- или медикаментозной терапией, антигельминтными средствами и т. д.

Иммуномодуляция является основным механизмом терапевтического воздействия активационной иммунотерапии. Суть её состоит в индукции разнонаправ-

ленных, но взаимосвязанных изменений в иммунной системе под воздействием препарата [52].

Иммуномодуляторами являются лекарственные средства, обладающие иммуностимулирующей активностью, которые в терапевтических дозах восстанавливают функции иммунной системы (эффективную иммунную защиту). Лечебный эффект иммуномодуляторов зависит от исходного состояния иммунитета больного. Главной сферой их применения являются вторичные иммунодефициты, которые проявляются в частых рецидивирующих, тяжело поддающихся лечению инфекционно-воспалительных заболеваниях различной этиологии и любой локализации.

К иммуномодуляторам предъявляются следующие требования [20]:

- хорошая совместимость с другими лекарственными препаратами, которые применяются при воспалительных и инфекционных заболеваниях в рамках комплексной терапии либо в связи с сопутствующими заболеваниями;
- высокий профиль безопасности и эффективности;
- возможность использования у пациентов с аллергическими заболеваниями;
- возможность применения в любой возрастной группе;
- возможность применения при любой сопутствующей патологии любой степени тяжести у данного пациента;
- наличие разных лекарственных форм для наиболее быстрой доставки иммуномодулятора в область назначения [40].

Современные тенденции расширения ассортимента медицинских и ветеринарных препаратов природного происхождения направлены на использование в качестве сырья тканей и органов сельскохозяйственных животных для разработки иммуномодуляторов. Однако остро стоит вопрос о выделении целевых веществ из сырья и сохранении их активности в конечном продукте. В работе Э. Б. Кашиновой и её коллег [37] представлены результаты оптимизации технологии выделения целевых веществ путём экстракции с применением различных скоростей перемешивания и разного времени экстракции. Объектами исследования послужили ткани поджелудочной железы, двенадцатипёрстной кишки и слизистой оболочки желудка свиней. В результате проведённых исследований было показано, что опти-

мальная скорость перемешивания для максимального выхода белков составляет 600 об/мин, в то время как использование скорости 800 об/мин вызывало обильное пенообразование, что увеличивает затраты на пеногасители, а экстракция на скорости 400 об/мин приводит к недостаточному выходу белков и увеличению времени экстракции. Оптимальная скорость перемешивания при экстракции веществ из двенадцатиперстной кишки и поджелудочной железы – 600 об/мин в течение 2 ч, из слизистой оболочки желудка – 600 об/мин в течение 3 ч. Электрофоретическое исследование при всех режимах экстракции показало, что скорость экстракции качественно не влияет на белково-пептидный профиль экстрактов, но оказывает влияние на количественный выход определённых белковых фракций, как правило, минорных. Сравнение полученных электрофореграмм с международными белковыми базами данных показало высокую тканевую специфичность исследуемых тканей внутренних органов, причём интенсификация белковых полос на треках наблюдалась преимущественно в области менее 70 кДа. Таким образом, полученные результаты позволили определить технологические режимы выделения целевых веществ из тканей свиней, рекомендуемых к использованию в кормах для животных. Перспективным направлением является разработка кормовых добавок из сырья животного происхождения [37].

В настоящее время биотехнология, сформировавшаяся как самостоятельная наука в начале XX в., интенсивно развивается, способствуя промышленно-технологическому прорыву. За последние годы разработано большое количество новых методов исследования и интенсификации процессов, открывающих ранее неизвестные возможности в получении иммуномодуляторов, способов выделения, идентификации и очистки питательных веществ, а также новых видов продуктов питания [83].

Главной ролью иммунной системы является сохранение гомеостаза путём распознавания чужеродных антигенов. Нарушение её функций возможно корректировать с помощью иммуностропных препаратов, в том числе иммуномодуляторов. Нередко термином «иммуномодулятор» называют вещества, которые напрямую на иммунитет не воздействуют. Так обстоят дела с кормовыми добавками и ветеринар-

ными препаратами, содержащими витамины, некоторые пробиотики и пребиотики, которые на самом деле являются в большей степени иммунобиологическими препаратами – эрготропиками, улучшающими функции обмена веществ, пищеварения, или адаптогенами. Имеются данные, что некоторые бактерии (в том числе лактобактерии), обитающие в желудочно-кишечном тракте животных, размножаясь в кишечнике, стимулируют местную лимфоидную ткань. Действие иммуномодуляторов зависит от состава, дозы, спектра активности (некоторые средства особенно эффективны при профилактике и лечении вирусных инфекций, другие против бактериальных и др.). В животноводстве иммуномодуляторы используют с разными целями, в том числе для борьбы с бактериальными и вирусными заболеваниями, нормализации формулы крови, коррекции и профилактики стресса, детоксикации, стимуляции роста и развития молодняка [14].

Иммуномодуляторы действуют по-разному в зависимости от состава, дозы и точки приложения (одни препараты наиболее эффективны против бактериальных инфекций, другие – против вирусных, и т. д.).

Все иммуномодуляторы можно отнести к нескольким группам: природного (естественного) происхождения, синтетические и комплексные. По источнику происхождения иммуномодуляторы можно разделить на микробные (лизаты бактерий и части клеточных стенок), тимические и тканевые (пептиды тимуса, плаценты), костномозговые препараты, цитокины (интерлейкины и интерфероны), нуклеиновые кислоты (натриевая соль рибонуклеиновой кислоты), растительные препараты, химически чистые вещества. Тканевые препараты представлены средствами на основе антисептического стимулятора Дорогова (АСД) и плаценты. Среди них есть комплексные иммуномодуляторы, содержащие витамины и минералы, а также органические кислоты [44].

Главными активаторами врождённого и индукторами приобретённого иммунитета в организме человека и высших животных являются антигены микробных клеток (экзогенные вещества), с которых и начались поиски, изучение и создание иммуотропных веществ. Формирование иммунного ответа происходит под контролем ряда иммунорегуляторных молекул. Поэтому другим направлением в раз-

работке иммуотропных веществ явился поиск, выделение и изучение комплекса тех веществ и молекул, которые синтезируются в организме при развитии иммунного ответа и которые осуществляют его регуляцию (эндогенные вещества) [88].

В настоящее время иммунобиологические активные вещества, предназначенные для восстановления работы системы иммунитета, получают из представителей разных видов и классов животных и микроорганизмов, в частности из органов крупного и мелкого рогатого скота, птиц, пресмыкающихся, морских животных, микробов и т. д. Вещества с различной в отношении иммунной системы степенью активности получают от животных на разных стадиях онтогенеза – плодов, новорождённых, половозрелых особей. Так, иммуномодулин получают из тимуса плодов овец, иммуноактивное вещество – из селезёнки новорождённых овец. Согласно сложившимся научным представлениям, практически все системы организма могут служить источником для получения иммуноактивных веществ. Например, многие иммуотропные вещества получены из тимуса, селезёнки – органов иммунной системы. Из почек свиней и кур получены вещества с иммуномодулирующими свойствами. Богатым источником биологически активных веществ являются жидкая соединительная ткань – кровь и органы эндокринной системы. Так, высокоэффективные иммуномодуляторы выделены из гипофиза. Из клеток костного мозга свиней получен ряд иммуноактивных веществ, которые, помимо модуляции иммунологических реакций, оказывают обезболивающее действие [97].

Источником уникальных веществ широкого спектра действия являются морские гидробионты, которые в составе соединений часто превосходят аналоги наземного происхождения по биологической или фармакологической активности. Дальневосточные учёные интенсивно занимаются выделением и изучением иммуноактивных пептидов из различных тканей гидробионтов: костного мозга и гормонов тимуса морских млекопитающих, из молок, печени и сердца лососёвых рыб. Из оптических ганглиев кальмара *Berryteuthis magister* выделен комплекс пептидов тинростим. Было установлено, что это пептидное соединение стимулирует гуморальный иммунный ответ, фагоцитоз, оказывает активирующее воздействие на ферменты антиоксидантной системы, проявляет апоптозрегулирующую актив-

ность, влияет на перекисное окисление липидов, реакции сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, обладает противовоспалительными свойствами. В настоящее время тинростим выпускается в виде биологически активной добавки к пище и используется практическими врачами в качестве средства сопровождения базисной терапии при некоторых заболеваниях [41].

Областью применения иммунорегуляторных пептидов на основе экстрактов ткани тимуса (тимических факторов) является иммуномодуляция при вторичной иммунной недостаточности (ВИН), преимущественно затрагивающей Т-клеточное звено иммунной системы. Экстракты тимуса крупного рогатого скота применяют при иммунодефиците, сопровождающем хронические воспалительные процессы, травмы, перитонит, лучевую и химиотерапию и т. п. Тимические факторы неэффективны при первичном иммунодефиците. Они являются мягкими иммуномодуляторами. Иммунорегуляторным пептидом на основе костного мозга является миелопид. Миелопид – естественный иммуномодулятор, получаемый из костного мозга млекопитающих (свиней или телят). В состав миелопида входят шесть специфичных для костного мозга медиаторов иммунного ответа, называемых миелопептидами [60].

Тимус человека продуцирует пептидные субстанции, часто называемые «гормонами» тимуса, которые повышают активность Т-клеточного иммунитета, усиливают миграцию костномозговых предшественников в тимус, а также регулируют созревание гонадной оси и обладают нейропептидной активностью. В клинической практике издавна использовались вещества, полученные на основе экстрактов ткани тимуса животных, – тактивин, тимоптин, тимактид, тималин. Однако в настоящее время биологические иммуномодуляторы тимуса считаются недостаточно эффективными, и более широкое применение получают синтетические аналоги тимических гормонов – иммунофан, тимопентин и др. Иммуномодуляторы показаны взрослым при заболеваниях с проявлениями тимической недостаточности – нарушениях Т-клеточного иммунитета – в качестве заместительной терапии. Продемонстрирован хороший клинический эффект в комплексном лечении (одновременно с базовой терапией) тяжёлых рецидивирующих гнойно-воспалительных и вирус-

ных процессов различной локализации, лимфопролиферативных заболеваний, рассеянного склероза, псориаза, для ликвидации последствий послеоперационного стресса. В то же время следует учитывать, что назначение производных тимуса, особенно длительное, может привести к ещё более выраженному дисбалансу в иммунной системе, поэтому с профилактической целью такие препараты обычно не назначают [58].

На сегодняшний день биологически активные добавки и продукты питания, имеющие в составе БАП, используются в питании человека в России и ещё в большем масштабе за рубежом. Все большую актуальность приобретает использование таких добавок в рационе лиц, ведущих активный образ жизни, и спортсменов для восстановления после интенсивных тренировок [140].

Пептиды с различной в отношении иммунной системы степенью активности получают от животных на разных стадиях онтогенеза – плодов, новорождённых, половозрелых особей. Так, иммуномодулин получают из тимуса плодов овец, иммуноактивное вещество – из селезёнки новорождённых овец. Согласно сложившимся научным представлениям, практически все системы организма могут служить источником для получения иммуноактивных пептидов. Например, многие пептиды получены из тимуса, селезёнки – органов иммунной системы. Из почек свиней и кур получены пептиды с иммуномодулирующими свойствами. Богатым источником биологически активных веществ являются жидкая соединительная ткань – кровь и органы эндокринной системы. Так, высокоэффективные иммуномодуляторы выделены из гипофиза. Из клеток костного мозга свиней получен ряд иммуноактивных веществ, которые, помимо модуляции иммунологических реакций, оказывают обезболивающее действие [12].

Иммуномодуляторы в зависимости от происхождения классифицируются на тимические, тканевые (плаценты, пептиды тимуса), микробные (части клеточных стенок, лизаты бактерий), цитокины (интерфероны и интерлейкины), нуклеиновые кислоты, растительные и костномозговые препараты, химически чистые вещества [14].

В клинической практике используются экзогенные, эндогенные и химически чистые (синтетические) иммуномодуляторы. К экзогенной группе относятся вещества микробного или растительного происхождения, нуклеиновые кислоты и др. К эндогенным иммуномодуляторам относятся цитокины (интерфероны, интерлейкины, колониестимулирующий фактор) и иммунорегуляторные пептиды (вещества тимического и костномозгового происхождения) [16].

В исследовании [163] выделены пептиды сырой кожи морского сома *Tachysurus dussumieri* и исследована их противоопухолевая эффективность на клеточной линии рака толстой кишки человека. Методом МТТ-анализа концентрацию ингибирования (IC_{50}) получили при 600 мкг/мл через 24 ч. Фрагментация ДНК и результаты проточной цитометрии показали, что пептиды кожи морского сома индуцируют конденсацию хроматина, апоптотическую гибель клеток, а также нарушают клеточный цикл в фазе G0/G1 на линии клеток рака толстой кишки (рисунок 1).



Рисунок 1 – Схема получения и влияние пептидов кожи морского сома на клеточную линию рака толстой кишки человека

Широко известен тканевый иммуномодулятор глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) – активная фармацевтическая субстанция. ГМДП активизирует клетки иммунной системы *in vitro*, усиливает иммунный ответ на различные антигены, в

том числе микробные [89]. ГМДП после проведения доклинических и клинических испытаний был зарегистрирован под названием Ликопид®. В последующем разработчики препарата и производитель организовали широкие экспериментальные и клинические исследования по многим направлениям в различных научных и клинических учреждениях России, а затем и в странах ближнего и дальнего зарубежья, в том числе в Латвии, Болгарии, Англии, Австралии [62].

Тканевый препарат, полученный ферментативным гидролизом мышечного белка *O. woodmasoni* с использованием термолизина и пепсина с последующей ультрафильтрацией на мембранной установке, очисткой с помощью гель-фильтрационной хроматографии (GFC) и быстрой белковой жидкостной хроматографии (FPLC), состоит из пяти аминокислотных последовательностей (Asn-Gly-Val-Ala-Ala) с молекулярной массой 431 Да через LC-MS/MS TH1-A1 (рисунок 2).

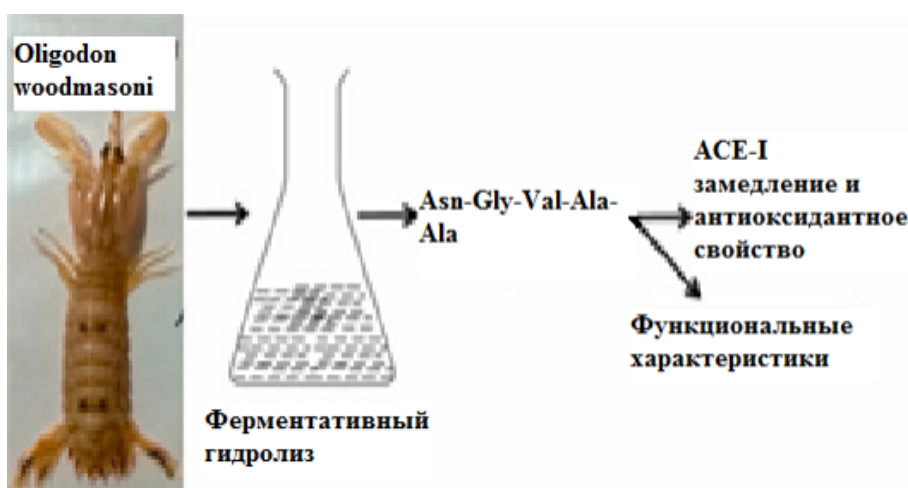


Рисунок 2 – Технология выделения пептидов с помощью ферментативного гидролиза мышечного белка *O. woodmasoni*

Исследованиями доказано, что пептид – гидролизат мышечного белка *O. woodmasoni* токсичен для клеток MCF-7, имеет высокую антиоксидантную активность при pH от 2 до 10 [134].

Тканевый препарат на основе катионного изопептида ε-поли-L-лизин (ε-PL) производится из незаменимой аминокислоты L-лизина и проявляет антимикробную активность против широкого спектра бактерий [137; 186].

Изучению свойств тканевых препаратов на основе бурсы (фабрициевой сумки) птиц в последнее время уделяется особое внимание. X. Feng и его коллегами [124] был проведён эксперимент по иммунизации цыплят бурсальным пентапептидом-II (BPP-II) и вакциной против птичьего гриппа (avian influenza virus, AIV) с определением продукции антител и интерлейкина-4. Результаты показали, что BPP-II играет сильную индуцирующую роль в гуморальных иммунных реакциях. Чтобы исследовать экспрессию гена на транскрипционном уровне, В-лимфоцитарные клетки DT40 птиц обрабатывали BPP-II и анализировали с помощью генного микрочипирования. Полученные результаты доказали, что введение BPP-II регулирует 11 путей, в которых гомологичная рекомбинация является жизненно важным механизмом, участвующим в конверсии и диверсификации генов антител иммуноглобулинов во время развития В-клеток. Эти результаты позволили предположить, что биологически активный пептид BPP-II, полученный из бурсы, может быть вовлечён в процессы производства антител и развития В-клеток, что жизненно важно для центрального гуморального иммунного органа – бурсы (фабрициевой сумки).

В исследовании [123] 75-дневных цыплят дважды подкожно иммунизировали бурсальным септпептидом-II (BSP-II) и инактивированным вирусом птичьего гриппа (AIV, штамм H9N2). Было доказано, что BSP-II индуцирует у иммунизированных цыплят сильную продукцию AIV-специфических HI-антител. Кроме того, BSP-II повышает жизнеспособность клеток пре-В-лимфоцитов DT40 птиц. Для изучения глобальных паттернов экспрессии генов в клетках DT40 после обработки BSP-II было проведено генное микрочипирование. Установлено, что дифференциально экспрессируемые гены участвуют в различных путях, из которых шесть путей связаны с сигнальной трансдукцией, включая сигнальные пути ErbB, MAPK, Toll, Notch, mTOR и Wnt.

Установлено, что BP5 эффективно подавляет маркеры окислительного стресса, включая оксид азота (NO), активные формы кислорода, перекисное окисление липидов и окисление белков; снижает экспрессию и активность индуцируемой синтазы оксида азота (iNOS) и способствует защитному антиоксидантному со-

стоянию, стимулируя экспрессию и активность некоторых ключевых антиоксидантных и окислительно-восстановительных ферментов, включая глутатионпероксидазу, глутатионредуктазу, супероксиддисмутазу и каталазу. Этот эффект подавления окислительного стресса сопровождался пониженной регулируемой экспрессией и активностью ядерного фактора каппа В (NF- κ B) [118].

BP5 значительно стимулирует экспрессию белка p53 в клетках рака толстой кишки HCT116. BP5 обладает сильным ингибирующим действием на рост клеток и индуцирует апоптоз в клетках HCT116. Механически BP5 останавливает клеточный цикл в фазе G1, увеличивая экспрессию p53 и p21 и уменьшая экспрессию комплекса циклина E1-CDK2. Лечение BP5 резко активирует стресс-опосредованный апоптотический путь эндоплазматического ретикулума (ER), о чем свидетельствует значительное усиление экспрессии сенсоров развёрнутого белкового ответа (IRE1a, ATF6, PERK), а также нижестоящих сигнальных молекул (XBP-1s, eIF2a, ATF4 и CHOP) и значительное изменение фенотипических изменений, индуцированных BP5 в нокаутных клетках IRE1, ATF6 и PERK. Кроме того, вызванный BP5 стресс ER сопровождался накоплением цитозольного свободного Ca²⁺ и внутриклеточных активных форм кислорода. Применение BP5 приводит к увеличению экспрессии Bax, снижению экспрессии Bcl-2 и уменьшению δ_m , что впоследствии вызывает высвобождение цитохрома из митохондрий в цитоплазму и усиливает активность каспаз-9 и -3. Следовательно, BP5 обладает противоопухолевой способностью останавливать клеточный цикл в фазе G1 и вызывать ER-стресс или митохондриально-опосредованный каспазозависимый апоптоз в клетках HCT116 [145].

Дендритные клетки играют жизненно важную роль в регуляции иммуноопосредованных воспалительных заболеваний. Они рассматриваются в качестве основной мишени при разработке иммуномодуляторов. Однако окислительный стресс может нарушить регуляцию иммуноопосредованных воспалительных заболеваний. Авторами [162] изучено влияние бурсопентина (BP5) на защиту дендритных клеток от окислительного стресса при иммуносупрессии. BP5 показал мощные защитные эффекты против окислительного стресса, индуцированного липополисахаридом (LPS), в дендритных клетках, включая оксид азота, активные

формы кислорода и перекисное окисление липидов. Кроме того, ВР5 повышал уровень клеточного восстановительного статуса за счёт увеличения восстановленного глутатиона (GSH) и соотношения GSH/GSSG. Наряду с этим активность нескольких антиоксидантных окислительно-восстановительных ферментов, включая глутатионпероксидазу, каталазу и супероксиддисмутазу, была явно повышена. ВР5 также подавлял подслизистое созревание дендритных клеток в системе кокультуры LPS-стимулированных кишечных эпителиальных клеток. В итоге обнаружено, что под действием ВР5 заметно повышается концентрация гем-оксигеназы 1 в LPS-индуцированных дендритных клетках и играет важную роль в подавлении окислительного стресса и созревания дендритных клеток. Эти результаты показали, что ВР5 может защищать дендритные клетки от LPS-индуцированного окислительного стресса и найдет потенциальное применение в регулировании воспалительных реакций, связанных с ними.

1.3 Фабрициева сумка как источник пептидов

Интерес к иммуномодулирующей терапии связан прежде всего с тем, что практически при всех патологиях человека изучен иммунный статус и наметился определенный круг заболеваний человека с преимущественным поражением иммунной системы [55]. За последние годы выявилось также большое количество заболеваний сельскохозяйственных животных, ассоциированных с иммунопатологическими состояниями, при которых необходимо применение иммуномодуляторов в качестве основных и вспомогательных лекарственных средств [18; 31; 95].

Отечественными и зарубежными специалистами разработаны и успешно применяются как в эксперименте, так и в клинической практике белковые препараты, так называемые иммуномодуляторы, полученные из органов и тканей животных, в том числе тимуса крупного рогатого скота (Т-активин, тималин, вилозен,

тимоптин), костного мозга свиней (В-активин, миелопид) и других лимфоидных органов, которые позволяют корректировать нарушения иммунной системы. Перечисленные выше препараты способствуют восстановлению целого ряда физиологических функций организма, таких как иммунологическая реактивность, гемопоз, гемостаз и нейроэндокринная регуляция [2; 27; 42; 45; 51; 56; 57].

На основе миелопептидов, полученных из костного мозга свиней, создан новый иммуномодулирующий препарат «Миелопид» (В-активин), который воздействует на В-клетки иммунной системы и является высокоэффективным модулятором синтеза антител на продуктивной фазе иммунного ответа. Он нашёл широкое применение в ветеринарии и животноводстве как иммуномодулятор и биостимулятор при острых кишечных и респираторных болезнях молодняка сельскохозяйственных животных [17; 18]. Однако относительно небольшое количество имеющихся в распоряжении медиков активных и безопасных лекарственных препаратов, действующих избирательно на отдельные звенья иммунной системы, определяет актуальность дальнейшего поиска новых иммуномодуляторов.

Не менее важной проблемой является и поиск сырья для их производства. Существенный интерес в этом плане представляет фабрициева сумка (бурса) кур. Она является центральным органом иммунологической защиты, в котором развиваются бурсозависимые лимфоциты (В-лимфоциты), участвующие в формировании антител, синтезе иммуноглобулинов и ответственные за реакции гуморального иммунитета. Бурса кур является перспективным сырьём животного происхождения для получения иммуномодулирующих препаратов – доступным для заготовки в больших количествах, дешёвым (она является отходом производства птицеперерабатывающих предприятий) и экологически чистым. Однако работы, свидетельствующие о получении и изучении свойств биологически активных веществ из бурсы, немногочисленны [1; 22; 113; 120] и не содержат достаточных сведений о её составе, физико-химических и биологических свойствах. В литературе нет также сведений о технологии создания лекарственных препаратов на основе бурсы кур.

Таким образом, в клинической практике используются три основные группы иммуномодуляторов: экзогенные, эндогенные и химически чистые (синтетиче-

ские). К экзогенной группе относятся препараты микробного или растительного происхождения, нуклеиновые кислоты и др. К эндогенным препаратам относятся цитокины и иммунорегуляторные пептиды. В группу иммуномодуляторов цитокиновой природы входят, например, интерфероны, интерлейкины, колониестимулирующий фактор. К иммунорегуляторным пептидам принадлежат препараты тимического и костномозгового происхождения [16].

Таким образом, фабрициева сумка как источник иммуномодулирующих пептидов представляется перспективным видом сырья, разработка технологии пептидов путём её гидролиза и практическое их применение в составе специализированных продуктов актуальны и целесообразны.

Заключение по обзору литературы

Использование иммуномодулирующих препаратов в медицине и ветеринарии приобретает всё большее распространение по мере появления новых источников их получения, а также направлений их использования.

Перспективным и малоизученным видом сырья для производства биопептидов является фабрициева сумка кур, к которой не определены требования, не установлены режимы хранения и переработки.

Молозиво коров также мало используется в производстве специализированной продукции, учитывая трудности его сбора, хранения, переработки.

В связи с этим данная работа, посвящённая разработке технологии получения пептидов с иммуномодулирующими свойствами путём ферментативного гидролиза фабрициевой сумки цыплят-бройлеров и их практическому применению в составе специализированной пищевой продукции, является актуальной и направлена на решение важной народнохозяйственной задачи.

Задачи исследования:

- установить требования к фабрициевой сумке цыплят-бройлеров как к сырью для получения пептидов;
- определить оптимальные параметры ферментативного гидролиза и выделения коротких пептидов фабрициевой сумки цыплят-бройлеров;
- провести оценку токсичности, цитотоксичности и иммуномодулирующего действия биопептидов на мышцах линий C57BL/6, C57BL/10, C3H, SJL, культурах клеток L929, J774.1A, HeLaS3, K562, HCT116 и MCF-7, пролиферативной активности лимфоцитов у иммунодепрессивных мышей линии BALb/c, лабораторных мышцах на фоне экспериментальной сальмонеллёзной инфекции;
- дать оценку качества и определить пищевую ценность молозива коров с целью обоснования его использования в составе специализированной пищевой продукции;
- разработать белковый сухой напиток для питания спортсменов с использованием сухого молозива коров и пептидов, выделенных из фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, определить регламентируемые показатели качества.

2 Организация эксперимента, объекты и методы исследования

2.1 Организация эксперимента

Теоретические и экспериментальные исследования проведены на кафедре пищевой инженерии, в Едином лабораторном комплексе ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет», в департаменте биологии и фундаментальной медицины Института естественных наук и математики Уральского федерального университета имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, в Институте иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН), в лаборатории научно-инновационного центра Института ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный аграрный университет».

Схема проведения исследований состоит из пяти этапов (рисунок 3).

Первый этап работы посвящён анализу научно-технической литературы, изучению методов исследования и интенсификации процессов получения иммуномодуляторов, характеристике пептидов с иммуномодулирующими свойствами. На данном этапе рассмотрена возможность использования органов лимфоидной ткани птицы, в частности фабрициевой сумки, как источника пептидов, и производства биологически активных веществ иммуномодулирующего действия. Также аналитический обзор литературы посвящён использованию молозива как источника эссенциальных веществ для производства новых видов продуктов питания.

Второй этап посвящён установлению требований к фабрициевой сумке цыплят-бройлеров как к сырью для получения пептидов; разработке технологии получения ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров; научному и экспериментальному обоснованию рациональных технологических режимов, определяющих функциональную активность выделенных пептидов.

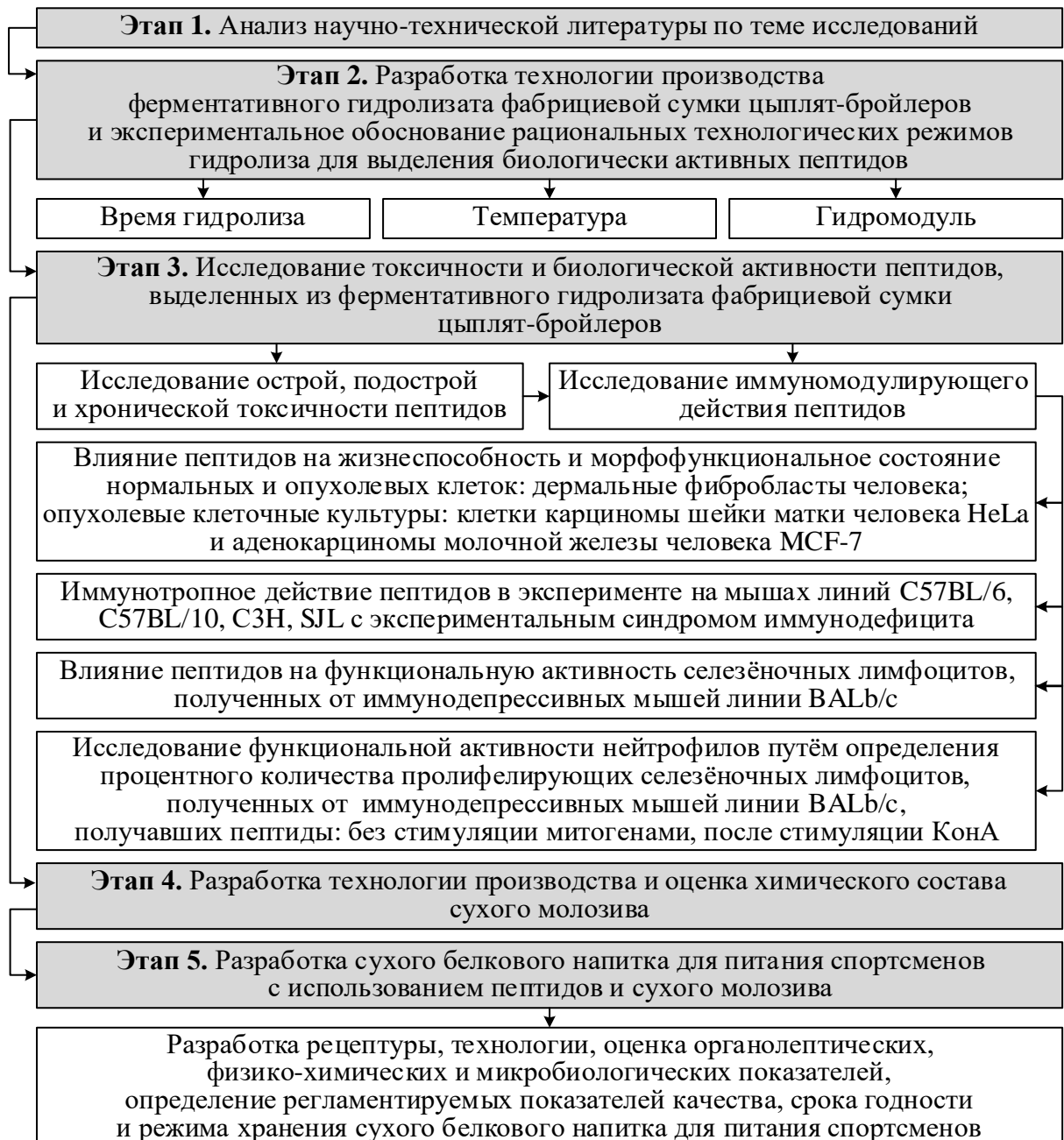


Рисунок 3 – Общая схема исследований

На **третьем этапе** исследована биологическая активность пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров. Исследована острая, подострая и хроническая токсичность пептидов с помощью макро- и микроскопирования органов мышей. Проведён эксперимент по изучению иммуномодулирующего действия пептидов на мышах разных линий с экспериментальным синдромом иммунодефицита и влияния пептидов на жизнеспособность и морфофункциональное состояние нормальных и опухолевых клеток. Проведён

эксперимент по влиянию пептидов на функциональную активность нейтрофилов. Третий этап работы выполнен совместно с канд. вет. наук, доцентом кафедры пищевой инженерии УрГЭУ Н. А. Кольберг.

На **четвёртом этапе** разработана технология и дана оценка качества сухого молозива.

На **пятом этапе** разработан сухой белковый спортивный напиток «Спортивное долголетие» с использованием пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров и сухого молозива. Проведена оценка органолептических и физико-химических показателей, исследован химический состав белкового сухого напитка, установлена его микробиологическая безопасность, определены регламентируемые показатели качества, сроки и режим хранения.

2.2 Объекты и методы исследований

Объектами исследований являются:

- ферментативный гидролизат фабрициевой сумки цыплят-бройлеров;
- фермент папаин, КФ 3.4.22.2 (активность 6 000 ед/мг белка, производитель «Американ Хелс»);
- пептиды, выделенные из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров;
- молозиво, полученное от коров черно-пёстрой породы сразу после отёла и через 12 и 24 ч после отёла (производитель ООО «ТД «Регион ТС» «Балтымский агрокомплекс»);
- сухое молозиво;
- белковый сухой напиток для питания спортсменов;

– мыши-самцы линий C3H, C57BL/6, C57BL/10, SJL, BALb/c, беспородные белые мыши трёхмесячного возраста.

В работе были использованы следующие методы исследования:

- гель-фильтрация ферментативного гидролизата фабрициевой сумки;
- хроматографический метод. Аминокислоты определяли с помощью ионообменной хроматографии на хроматографе Agilent Technologies;
- метод Лэммли. Распределение белков и пептидов по молекулярной массе оценивали методом электрофореза в полиакриламидом геле в присутствии додецилсульфата натрия по методу Лэммли.

Макроскопическое и микроскопическое исследование. Оценку возможного токсического действия пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата, проводили с помощью макро- и микроскопического исследования органов нелинейных белых мышей на 1-е и 7-е сутки после окончания их месячного внутрижелудочного введения в дозе 15 000 мг/кг. Проведено макро- и микроскопическое исследование печени, лёгких, сердца, тимуса, селезёнки, корня языка, желудка, тонкого и толстого кишечника, брыжейки, головного мозга. В качестве контроля использовали органы интактных животных.

Метод моделирования экспериментального иммунодефицита. Оценка эффективности ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, в частности, иммуностропных свойств пептидов ферментативного гидролизата, проводилась с помощью модели экспериментального иммунодефицита. Работа выполнена на мышьях-самцах линий C3H, C57BL/6, C57BL/10, SJL трёхмесячного возраста, содержащихся в стандартных условиях вивария. Все манипуляции с животными были осуществлены в соответствии с Директивой Совета ЕС 2010/63/EU и одобрены этическим комитетом ИИФ УрО РАН. Экспериментальный иммунодефицит моделировался путём введения циклофосамида (Эндоксан®, «Бакстер Онкология ГмбХ», Германия) однократно внутрибрюшинно в дозе 200 мг/кг от массы тела животного в виде раствора со стерильным хлоридом натрия 0,9 % в концентрации 20 мг/мл (2-я группа). Контрольной группе мышей этих же линий вводился физиологический раствор хлорида натрия 0,9 % в аналогичном объёме (1-я группа).

Животным 3-й группы вводили пептиды ферментативного гидролизата внутрь в количестве 3 мл ежедневно в течение 7 сут и циклофосфамид по схеме, указанной для 2-й группы.

Замер массы тела. Проводился замер массы животных до воздействия.

Гематологический анализ крови. Проводился забор периферической крови из хвостовой вены в пробирку с КЗ-ЭДТА для проведения гематологического анализа крови и получения плазмы крови для последующего определения уровней Ig в ней.

Гистологическое и иммуногистохимическое исследования. Для гистологического и иммуногистохимического исследований проводили забор тимуса и селезенки, двух бедренных костей для определения клеточности костного мозга и подсчёта миелограммы.

Анализ периферической крови. Анализ периферической крови проводили на автоматизированном гематологическом анализаторе Celly 70 (Biocode Hysel), предназначенном для исследования крови животных. Забор крови осуществляли в специально предназначенные пластиковые пробирки, содержащие КЗ-ЭДТА в качестве антикоагулянта. Проводился автоматический подсчёт следующих показателей крови:

- WBC – абсолютное количество лейкоцитов ($10^3/\text{мкл}$);
- LYM# – абсолютное количество лимфоцитов ($10^3/\text{мкл}$);
- MID# – абсолютное количество средних клеток ($10^3/\text{мкл}$);
- GRN# – абсолютное количество гранулоцитов ($10^3/\text{мкл}$);
- LYM% – относительное содержание лимфоцитов (%);
- MID% – относительное содержание средних клеток (%);
- GRN% – относительное содержание гранулоцитов (%);
- RBC – абсолютное количество эритроцитов ($10^6/\text{мкл}$);
- Hb – содержание гемоглобина (г/дл);
- HCT – гематокрит (%);
- MCV – средний объем эритроцитов (фл);
- MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците (пг);
- MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/дл);

- RDW – распределение эритроцитов по размеру (%);
- PLT# – содержание тромбоцитов ($10^3/\text{мкл}$);
- PCT – тромбокрит (%);
- MPV – средний объем тромбоцитов (фл);
- PDW – распределение тромбоцитов по размеру (%).

Морфологические методы исследования. Образцы тимуса и селезёнки фиксировали в 10 % забуференном формалине 24–48 ч. Гистологическую проводку материала осуществляли при помощи автоматического тканевого процессора Leica TP1020. При этом материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, подвергали действию ксилола с последующей пропиткой парафином. Заливку образцов органов в парафин проводили при помощи станции заливки Leica EG1160. Готовые парафиновые блоки могут быть использованы на следующих этапах работы для гистологического и иммуногистохимического исследования.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Пробоподготовка для последующего ИФА по определению уровня Ig проводилась следующим образом: образцы крови собирали после наркотизации животных в пластиковые пробирки, содержащие КЗ-ЭДТА в качестве антикоагулянта, затем центрифугировали при $1000\times g$ в течение 15 мин при $4\text{ }^\circ\text{C}$ не позднее чем через 30 мин после забора крови. Полученную плазму крови хранили при минус $80\text{ }^\circ\text{C}$ до исследования.

Определение общей клеточности костного мозга и подсчёт миелограммы. Для подсчёта общего количества миелокариоцитов с помощью груши выдували костный мозг из бедренной кости в пробирку с 3 %-й уксусной кислотой ($V = 4\ 000$ мкл), подкрашенной метиленовым синим. Тщательно ресуспендировали костный мозг при помощи шприца с иглой, многократно набирая и выпуская взвесь через него. Далее набирали взвесь костного мозга в лейкоцитарный меланжер до отметки 0,5 и затем уксусную кислоту до отметки 11, дополнительно разводя таким образом взвесь в 20 раз. Содержимое меланжера заливали в камеру Горяева, предварительно спустив из меланжера чистую уксусную кислоту. Подсчёт проводили в 20 больших квадратах.

Рассчитывали клеточность по формуле:

$$K = \frac{n \cdot 20 \cdot 250 \cdot 4\,000}{20}, \quad (1)$$

где K – общее количество миелокариоцитов;

n – количество клеток костного мозга в одной бедренной кости мыши;

20 – разведение костного мозга;

250 – коэффициент пересчёта (объем одного большого квадрата 1/250);

4 000 – множитель для перевода количества клеток из 1 мкл взвеси в объем 4 000 мкл;

20 – количество просчитанных больших квадратов.

Дифференцировка миелокариоцитов в мазках костного мозга (около 500 миелокариоцитов в каждом препарате). Для получения мазка выдували с помощью груши костный мозг из бедренной кости в чашку Петри с каплей физиологического раствора. Пинцетом растирали костный мозг до гомогенной массы и делали мазок. Затем подсушенный мазок костного мозга мыши фиксировали этиловым спиртом и окрашивали красителем Романовского – Гимзы в течение 15 мин. Затем промывали мазки проточной водой и считали при увеличении $\times 100$ (с иммерсионным маслом) на световом микроскопе Leica DM 2500 (Германия). Представленные результаты показывают абсолютное количество миелокариоцитов костного мозга в миллионах на бедро по подтипам и процентное соотношение миелокариоцитов различных типов.

В качестве материалов исследований для оценки возможного цитотоксического влияния пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, на метаболизм клеток млекопитающих использовали перевиваемые культуры клеток человека и мыши, полученные из коллекции клеточных культур Института цитологии Российской академии наук. Перед использованием в экспериментах культуры клеток тестировали на жизнеспособность и функциональную активность согласно соответствующим стандартам.

Эксперименты проводили на нескольких типах клеточных культур:

– на культуре незрелых стволовых клеток;

– на культуре зрелых дифференцированных клеток – дермальные фибробласты человека;

– на культуре опухолевых клеток линий HeLa и MCF-7.

Данные группы клеток отличаются по степени зрелости, возможности дифференцировки, по функциональным способностям, по пролиферативной активности и чувствительности к внешним факторам.

Культура мезенхимальных клеток (МСК) выделена из берцовой кости крысы. МСК представляют собой нормальные фибробластоподобные веретеновидные клетки, характеризующиеся высокой пластичностью и способностью дифференцироваться в другие типы клеток (рисунок 4).

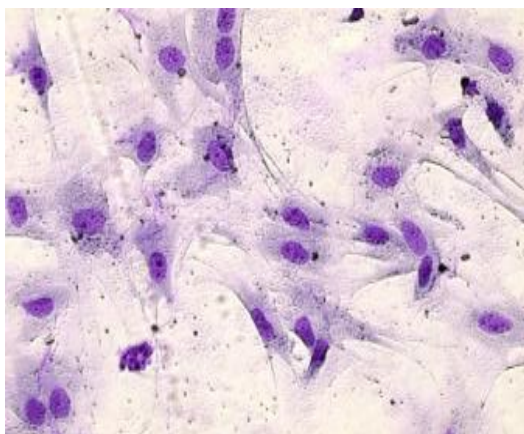


Рисунок 4 – Клеточная культура мезенхимальных стволовых клеток крысы (окраска по Романовскому – Гимзе, увеличение $\times 400$)

Выделение мезенхимальных клеток проводили с отделением эпифизов берцовой кости в стерильных условиях и последующим вымыванием костного мозга из костномозгового канала. Полученные клетки осаждали путём центрифугирования и культивировали в пластиковых флаконах на питательной среде.

Культура фибробластов человека получена из материала биопсии кожи в Институте медицинских клеточных технологий (г. Екатеринбург, Россия). Фибробласты представляют собой нормальные клетки соединительной ткани (рисунок 5). Данный тип клеток удобен для проведения исследования, поскольку при длительном пассировании сохраняется кариотип клеток и их нормальные свойства, что

позволяет видеть более точные, неискажённые результаты. Выделение фибробластов проводили из биопатов кожи путём ферментативной обработки и последующего инкубирования в питательной среде с соблюдением всех необходимых условий (температура, состав газа).

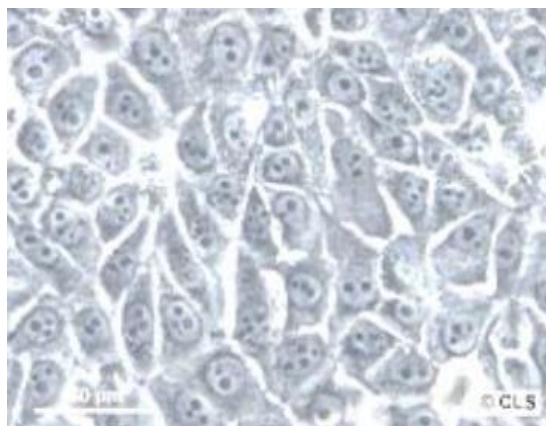


Рисунок 5 – Культура дермальных фибробластов человека (окраска по Романовскому – Гимза, увеличение $\times 400$)

Клеточная культура карциномы шейки матки человека HeLa получена из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН, г. Санкт-Петербург (рисунок 6). Это культура опухолевых клеток, способная неопределённо долго расти *in vitro* за счёт наличия фермента теломеразы. Использование препарата на данном типе клеток позволяет определить его цитостатический эффект.

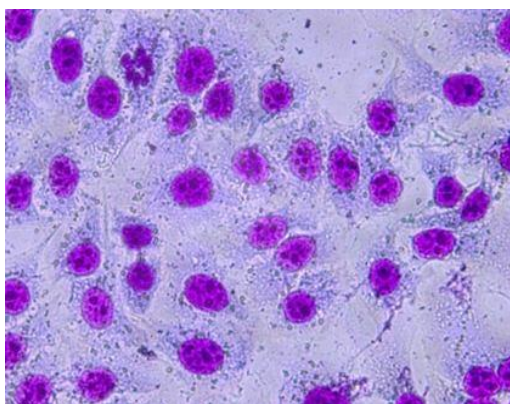


Рисунок 6 – Культура карциномы шейки матки человека HeLa (окраска по Романовскому – Гимзе, увеличение $\times 400$)

Клеточная культура аденокарциномы молочной железы MCF-7 получена из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН, г. Санкт-Петербург (рисунок 7). Простота использования клеточных линий позволяет проводить доклинические исследования лекарственных средств с целью расширения фундаментальных знаний о природе опухолевых клеток.

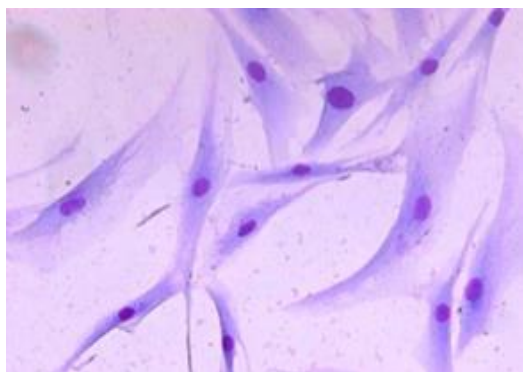


Рисунок 7 – Культура аденокарциномы молочной железы MCF-7 (окраска по Романовскому – Гимзе, увеличение $\times 400$)

Все подготовительные этапы работы, связанные с инкубированием клеток и приготовлением растворов, проводили в стерильных условиях в ламинарном боксе БАВнп-01-«Ламинар-С»-1,2 LORICA. Культивировали клетки в питательной среде DMEM (ООО «Биолот», Россия) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки и гентамицина в дозе 50 мкг/мл до образования монослоя. Культивирование проводили в CO₂ инкубаторе Sanyo (Panasonic) MCO-18AC при температуре 37 °C в атмосфере с 5 % CO₂.

Проводили микроскопический контроль среды с помощью инвертированного микроскопа Eclipse TS100, Nikon и в зависимости от достижения клетками монослоя меняли культуральную среду, как правило, каждые 3 дня.

Пересев клеточной культуры проводили один раз в 3–4 дня путём дезагрегирования клеточного монослоя с использованием трипсина.

Исследование биологической активности пептидов проводили на культурах клеток в следующих концентрациях, %: 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 20; 25; 40 и 50. Каждую концентрацию вносили в культуру клеток в количестве 6 повторений. Мини-

мальное количество пептидов, которое можно внести в культуру, – 1 мкл. Пептиды в данном количестве вносили на 100 мкл, что позволило получить концентрацию равную 0,5 %. При разведении в 5 раз концентрация равна 10 %. Также пептиды вносили в количестве 1 мкл на 100 мкл для получения концентрации 0,1 %. Разведение в 10 раз с аналогичным внесением в лунки дало концентрацию 0,05 %. Исследования влияния пептидов начинали с подготовки клеточных культур. Для этого клетки переводили из монослоя в суспензию. Подготовленную суспензию клеток в 10 мл питательной среды помещали в 96-луночные планшеты в количестве 100 мкл суспензии на одну лунку. Культивирование проводилось в течение 24 ч, после чего в лунки добавляли исследуемый препарат в разных объёмах. Через 48 ч после введения препарата проводилась оценка жизнеспособности клеток в клеточной культуре. Полученные данные сопоставляли с контролем и анализировали статистическим способом. Для оценки жизнеспособности клеток использовали микротетразолиевый тест (МТТ-тест). В каждую лунку планшета, в котором предварительно были культивированы клетки и внесён препарат, добавляли МТТ-краситель (тетразолиевый краситель 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид) по 20 мкл, после чего планшет ставили в термостат на 2 ч. МТТ-краситель под действием живых клеток превращается в пурпурно-синие клеточные кристаллы МТТ-формаза, количество которого эквивалентно количеству живых клеток. После инкубации культуральную среду и краситель осторожно сливали и в каждую лунку вносили по 100 мкл DMSO для растворения образовавшихся кристаллов формаза. После 5–7 мин детектировали фиолетовое окрашивание с помощью спектрофотометрического сканера Tecan Infinite M200 PRO при длине волны 570 нм.

На основе полученных данных определяли индекс цитотоксичности для каждой концентрации испытуемых пептидов. Затем определяли индекса пролиферации для каждой концентрации пептидов.

Изменения метаболического состояния клеток оценивали методом клеточной биологии, суть которого заключается в определении снижения суммарной активности митохондриальных дегидрогеназ в МТТ-тесте, который служит одним из

наиболее распространённых методов оценки цитотоксичности. Он основан на способности дегидрогеназ митохондрий восстанавливать жёлтую растворимую соль МТТ (3-(4,5-диметитиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид) до синего нерастворимого формазана, который накапливается в цитоплазме клеток. Реакция происходит только в живых клетках с активными митохондриальными ферментами. Таким образом, количество окрашенных клеток коррелирует с общей жизнеспособностью клеточного монослоя.

Пептиды в концентрациях 0,02; 0,04; 0,08; 0,16; 0,31; 0,63; 1,25; 2,5; 5,0 и 10,0 мг/мл добавляли к кондиционированным клеткам и инкубировали в течение 48 ч. Разведения исходного образца пептидов готовили на питательной среде для культивирования клеток. После окончания периода инкубации с тестируемым препаратом в лунки добавляли раствор МТТ до конечной концентрации 500 мкг/мл и инкубировали ещё 4 ч в стандартных условиях. Затем аккуратно убрали питательную среду и растворяли клеточный монослой в 10 %-м растворе додецилсульфата натрия в 0,01 М соляной кислоте. После полного растворения клеток измеряли оптическую плотность растворов при длине волны 595 нм на многоканальном спектрофотометре («Пикон», Россия). Оптическую плотность раствора в контрольных лунках, содержащих клетки без добавления пептидов, принимали за 100 %. Долю жизнеспособных клеток в лунках с пептидами (в процентах) рассчитывали, как отношение их оптической плотности к оптической плотности контрольных лунок без пептидов, умноженной на 100. В каждом отдельном эксперименте все пробы готовили в триплетах.

Оценку влияния пептидов на пролиферативную активность лимфоцитов проводили на мышах линии BALb/c. У части экспериментальных животных была индуцирована иммунодепрессия с помощью цитостатика «Циклофосфан» (Fluka, Китай). Циклофосфан (циклофосфамид моногидрат) вводили однократно за сутки до проведения экспериментов. Животные из первой (контрольной) группы получали *per os* физиологический раствор как плацебо, а из второй – пептиды. В третью и четвертую экспериментальные группы были взяты иммунодефицитные живот-

ные, принимавшие и не принимавшие пептиды. Препарат вводили животным ежедневно на протяжении 7 сут. Исследования проводили на 14-е сутки.

Принцип метода исследования пролиферативной активности лимфоцитов основан на способности окрашенных карбоксифлуоресцеином лимфоцитов делиться под влиянием митогена. Из одной клетки с большей (исходной) интенсивностью свечения образуются две дочерние, интенсивность свечения каждой из которых примерно в два раза ниже исходной и так далее. На цитометрической гистограмме окрашенные КФДАСЭ (5-,6-карбоксифлуоресцеиндиацетат-сукцинилмидил эфир) клетки располагаются в виде ряда последовательных пиков с уменьшающейся интенсивностью свечения. С помощью цитометрического метода можно проследить до 8 митозов.

Лимфоциты селезёнки экспериментальных и контрольных мышей получали *ex tempore*, после эвтаназии животных ингаляцией углекислым газом. В качестве митогена для неспецифической активации Т-лимфоцитов использовали конканавалин А (КонаА) в конечной концентрации 2 мкг/мл.

Цитометрический анализ проводили на основе определения трёх параметров: малого углового светорассеяния (FCS) и бокового светорассеяния (SSC) и одного показателя флуоресценции зелёной (КФДАСЭ).

Для оценки пролиферирующей активности лимфоцитов использовали три критерия:

1) процент бласттрансформации (% БТ) – обозначает, сколько лимфоцитов перешло из покоящейся фазы в фазу деления (превратилось в бласты):

$$\% \text{ БТ} = \frac{R_2}{R_1 + R_2} \cdot 100 \%, \quad (2)$$

где R_1 – процент клеток, оставшихся «в покое»;

R_2 – бласты (на Dot Plot FSCSSC);

100 – коэффициент пересчёта в проценты;

2) митотическую активность бластов (МАБ %) – процент активно делящихся бластов (сколько всего бластов претерпело дальнейшие деления), при этом все лимфоциты, вышедшие из фазы покоя, принимаются за 100 %, соответственно этому рассчитывается процент бластов по пикам:

$$\text{МАБ \%} = \frac{\frac{M_3}{2} + \frac{M_4}{4} + \frac{M_5}{8} + \frac{M_6}{16} + \frac{M_7}{32} + \frac{M_8}{64}}{M_2 + \frac{M_3}{2} + \frac{M_4}{4} + \frac{M_5}{8} + \frac{M_6}{16} + \frac{M_7}{32} + \frac{M_8}{64}} \cdot 100 \%, \quad (3)$$

где M_{2-8} – процент бластов в пиках на цитометрической гистограмме;

100 – коэффициент пересчёта в проценты;

3) индекс деления (ИД), обозначающий количество митозов каждого лимфоцита в процессе культивирования. При этом все лимфоциты, вышедшие из фазы покоя, принимаются за 100 %.

$$\text{ИД} = \frac{100 - Y}{Y}; \quad (4)$$

$$Y = M_2 + \frac{M_3}{2} + \frac{M_4}{4} + \frac{M_5}{8} + \frac{M_6}{16} + \frac{M_7}{32} + \frac{M_8}{64}, \quad (5)$$

где M_{2-8} – процент бластов в пиках на цитометрической гистограмме.

Если ИД = 1, то соответственно каждый лимфоцит претерпел (в среднем) одно деление, больший или меньший ИД свидетельствует о соответственно большей или меньшей митотической активности бластов.

Для анализа были использованы образцы селезёночных лимфоцитов, отобранных на 14-е сутки после окончания курса внутрижелудочного введения пептидов в дозе 750 мг/кг.

Для эксперимента по определению влияния пептидов на неспецифическую резистентность к инфекциям сформировали четыре группы белых беспородных мышей (самцы/самки массой (20 ± 2) г) по 30 голов в каждой. Первая группа (контроль) – пептиды не получали. Животным второй опытной группы ежедневно в течение семи суток скармливали пептиды в дозе 150 мг/кг, третьей опытной группы – в дозе 750 мг/кг, четвертой опытной группы – 3 750 мг/кг. Через 24 ч после последнего приёма пептидов животных внутрибрюшинно заражали различными дозами (5; 50; 500; 5 000 КОЕ) суточной агаровой культурой *Salmonella enteritidis*. В те же сроки культуру вводили контрольным мышам. Наблюдение длилось в течение 21 сут после заражения.

Оценку действия пептидов определяли по показателям: количество выживших животных (КВЖ), средний срок гибели (ССГ) и количество высеянной *S. enteritidis* из селезёнки погибших животных.

Белок в молозиве определяли по ГОСТ 25179-2014 «Молоко и молочные продукты. Методы определения массовой доли белка», жир – по ГОСТ 5867-90 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира», влагу – по ГОСТ 3626-73 «Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества (с изменениями № 1, 2, 3)». Общие иммуноглобулины и иммуноглобулины методом радиальной иммунодиффузии по Д. Манчини с использованием сыворотки диагностической моноспецифической «Моно-РИД-каппа, лямбда» в лаборатории научно-инновационного центра Института ветеринарной медицины Южно-Уральского государственного аграрного университета. Гомогенизацию молозива при инактивации протеаз проводили в гомогенизаторе «Measlab ПАХП-МТА». Стабильность иммуноглобулинов молозива под действием желудочного сока человека определяли путём добавления к 100 мл молозива 5 мл фармакологического препарата «Желудочный сок «Эквин». Учёт реакции проводили через 10; 20 и 30 мин.

Массовую долю влаги в белковом сухом напитке определяли по ГОСТ 15113.4 «Концентраты пищевые. Методы определения влаги», белок – методом Кьельдаля.

Статистические методы, используемые для обработки экспериментального материала. Анализ данных выполнен в пакете статистических программ Statistica 9.0. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) \pm стандартная ошибка среднего (m). Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна – Уитни (Mann–Whitney U-test). Для проверки гипотезы об однородности двух зависимых выборок использовали непараметрический критерий Уилкоксона (Wilcoxon signed-rank test). При проверке статистических гипотез использовали 5 %-й уровень значимости.

3 Результаты исследований и их обсуждение

3.1 Технология выделения пептидов из фабрициевой сумки

3.1.1 Определение требований к фабрициевой сумке цыплят-бройлеров как к сырью для получения пептидов и разработка технологии ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров для последующего выделения пептидов

Анализ научной литературы показал актуальность создания безопасных и высокоэффективных препаратов на основе пептидов, выделенных из гидролизатов бурсы, что определило цель исследования. Нами разработана технология получения ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров (ФГФСЦБ) с дальнейшим выделением пептидов как рецептурных компонентов и действующих ингредиентов пищевого продукта для питания спортсменов.

Для получения ферментативного гидролизата отбирают фабрициеву сумку после убоя цыплят-бройлеров в возрасте 35 дней. Для длительного хранения сырья рекомендуется его замораживание при температуре минус 30 °С с последующим хранением при температуре минус 18 °С.

Нами проведены исследования по оценке качества фабрициевой сумки. Для эксперимента были отобраны 147 тушек цыплят-бройлеров в возрасте 35 дней. По результатам исследований были сформулированы требования к качеству фабрициевой сумки, которые предполагают оценку по органолептическим, физико-химическим показателям и химическому составу (таблица 1).

Таблица 1 – Требования к качеству фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, предназначенной для получения пептидов

Показатель	Значение
Форма	Овальная
Цвет	Светло-розовый
Консистенция	Плотная
Масса, г	0,8–1,1
Белок, %	21–25
Жир, %	4–6
Влага, %	69–75
Зола, %	1–2
pH	5,9–6,2

На первом этапе проводится подготовка сырья, которая включает его промывку проточной водой, куттерование, гомогенизацию. Промывку сырья проводят в ёмкости с проточной водой в течение 10 мин при температуре воды 16–18 °С. Замороженное сырьё предварительно размораживают на воздухе.

Куттерование сырья проводили в течение 3 мин при частоте вращения ножей 2 400 об/мин с последующей гомогенизацией. Сырьё загружали в ёмкость гомогенизатора, оборудованного рубашкой, наполненной дистиллированной водой и имеющей встроенный нагревательный элемент, гомогенизировали при скорости вращения насадки L5M компании Silverson 600 об/мин при температуре 4 °С и гидролизывали в течение 60 мин.

Указанную температуру задавали с помощью насоса и компрессора холодильной установки, имеющихся в гомогенизаторе.

Следующим этапом является ферментативный гидролиз подготовленного сырья. Так как ферментализация лучше идёт в жидкой среде, необходимо подобрать оптимальный гидромодуль для гидролиза. Измельчённую фабрициеву сумку смешивали с дистиллированной водой в соотношениях 1:1; 1:3 и 1:5. Затем полученную массу нагревали до температуры оптимума активности фермента папаина (36 °С) и вносили фермент папаин (КФ 3.4.22.2), растворённый в фосфатно-буферном растворе с pH 6,0 из расчёта 0,10 %; 0,15 %; 0,20 % к основному сырью (фаб-

рицовой сумке), выдерживали в течение 6 ч. Оценку степени гидролиза белка проводили по массовой доле сухих веществ в растворе, содержанию аминного азота и изменению рН, которые являются косвенными признаками стабилизации процесса гидролиза. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Оценка степени гидролиза фабрицовой сумки при разном гидромодуле

Показатель	Гидромодуль		
	1:1	1:3	1:5
Массовая доля сухих веществ, %	31,2 ± 0,8	34,8 ± 0,40*	35,1 ± 0,5*
Массовая доля аминного азота, мг/100 г	347,65 ± 3,42	379,73 ± 3,85*	395,28 ± 4,02*
рН	5,83 ± 0,01	5,91 ± 0,01*	5,93 ± 0,01*
Примечание – Достоверно при * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.			

Лучшие результаты получены при гидромодуле 1:5, однако слишком большое разбавление продукта приведёт к лишним затратам при его фильтровании и сушке. Поэтому оптимальным гидромодулем принимаем 1:3.

Следующим этапом производства ферментативного гидролиза является обработка папаином. Папаин был выбран исходя из его действия на белки фабрицовой сумки, в результате чего продуктами гидролиза являются прежде всего пептиды и аминокислоты, а также оптимального значения рН, близкого к рН сырья.

Для определения оптимальной дозировки папаина и продолжительности процесса гидролиза сырье обрабатывали ферментным препаратом в количестве 0,10 %; 0,15 % и 0,2 % к массе. Контроль процесса осуществляли по накоплению в среде аминного азота, отбор проб проводили 1 раз в час. Содержание аминного азота в гидролизате фабрицовой сумки при разных концентрациях папаина приведена на рисунке 8.

Наилучшие результаты получены при концентрациях папаина, растворенного в фосфатно-буферном растворе в 0,15 % и 0,20 % к основному сырью (фабрицова сумка).

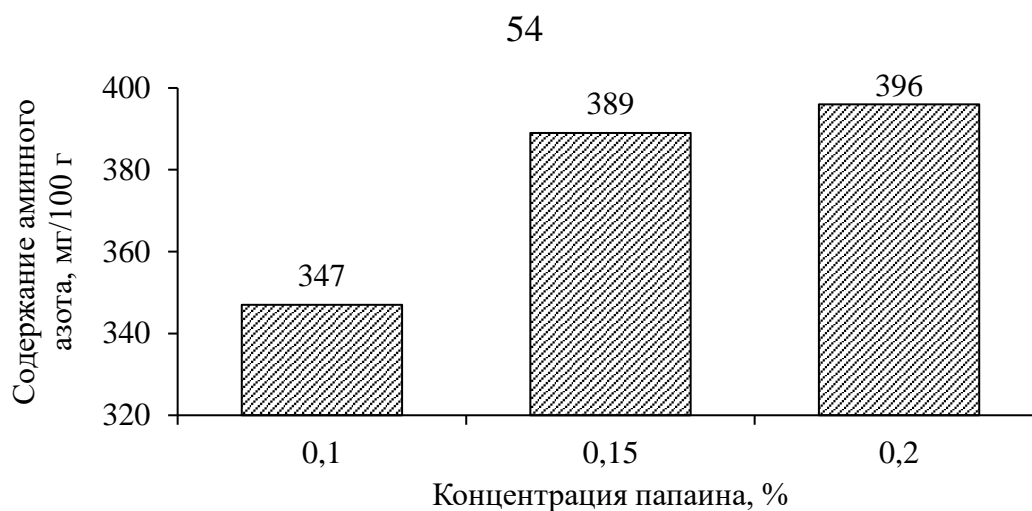


Рисунок 8 – Содержание аминного азота в гидролизате фабрициевой сумки при разных концентрациях папаина

Следует отметить, что содержание аминного азота в ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 % к основному сырью составляет 389 мг/100 г, при увеличении концентрации папаина до 0,20 % отмечается тенденция к увеличению содержания аминного азота (396 мг/100 г). Следовательно, целесообразно использовать для гидролиза фабрициевой сумки концентрацию папаина 0,15 %.

Для выделения пептидов с молекулярной массой от 27–18 кДа из ФГФСЦБ применили хроматографический метод анализа, в частности, гель-хроматографию (гель-фильтрацию). Метод гель-фильтрации основан на разделении белковых молекул на основе их молекулярной массы вне зависимости от их химического строения. Гель-фильтрацию осуществляли на хроматографических колонках, которые предварительно заполняли набухшими гранулами геля (сорбента), а затем вымывали (элюировали) разделяемые компоненты из исследуемого гидролизата путём его пропускания через хроматографическую колонку, последовательно собирая фракции. Условия проведения метода достаточно мягкие, что позволяет его использовать при работе, например, с ферментами, когда важно не допустить денатурацию пептидов. В качестве неподвижной фазы в данном хроматографическом методе использовали гель Sephadex G-25 и Sephadex G-75, от плотности которого напрямую зависит размер пор в гранулах.

3.1.2 Влияние технологических режимов гидролиза фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на молекулярное распределение фракций биопептидов

К технологическим режимам, определяющим функциональную активность ФГФСЦБ, относят концентрацию фермента, соотношение раствора сырья к дистиллированной воде, температуру и время гидролиза.

В таблице 3 представлено относительное содержание молекулярного распределения фракций пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, при гидромодуле 1:3, температуре 35 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от концентрации папаина к основному сырью.

Таблица 3 – Относительное содержание (%) молекулярного распределения фракций ФГФСЦБ при гидромодуле 1:3, температуре 35 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от концентрации папаина

Молекулярная масса, кДа	Концентрация папаина, % к основному сырью		
	0,10	0,15	0,20
27–30	22	9	29
27–18	62	73	57
Менее 18	16	18	14

Из таблицы 3 следует, что молекулярная масса пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, зависит от концентрации папаина. Так, при его концентрации 0,15 % молекулярная масса пептидов в большей степени составила от 27 до 18 кДа (73 %), а при концентрациях 0,10 % и 0,20 % – соответственно 62 % и 57 %. Следовательно, наиболее эффективным для получения ФГФСЦБ является использование концентрации папаина 0,15 %. Результаты электрофореза в полиакриламидном геле пептидов, выделенных из исследуемого гидролизата, при гидромодуле 1:3, температуре 35 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от концентрации папаина к основному сырью представлены на рисунке 9.

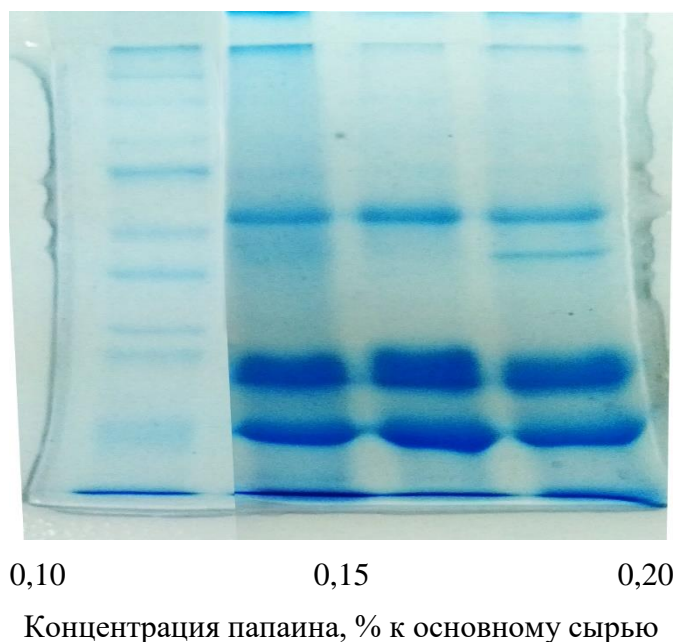


Рисунок 9 – Электрофорез в полиакриламидном геле пептидов из ФГФСЦБ при гидромодуле 1:3, температуре 35 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от концентрации папаина

В исследовании [148] доказано, что бурсальный пептид ВР11 с молекулярной массой 16–28 кДа регулирует дифференцировку В-клеток, в том числе увеличивает долю незрелых и зрелых В-клеток в клетках костного мозга, культивируемых совместно с интерлейкином-7. ВР11 оказывает иммуномодулирующее действие на антигенспецифические иммунные реакции у мышей линии BALB/с, иммунизированных вакциной с инактивированным вирусом гриппа А (подтип Н9N2), включая усиление продукции специфических антител и цитокинов. ВР11 стимулирует выработку антител. Следовательно, ВР11 может быть очень важным для развития иммунной системы.

Известно, что дендритные клетки служат основной мишенью для иммуномодуляторов. Установлено, что ВР5 значительно подавляет секрецию LPS-индуцированных провоспалительных (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12p70) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов дендритными клетками, и это влияние не обусловлено его цитотоксичностью. Кроме того, ВР5 препятствует морфологическим изменениям и ослабляет экспрессию фенотипических маркеров (молекул МНС-II, CD40, CD80 и CD86) в LPS-индуцированных дендритных клетках, а также восстанавливает в них сниженное поглощение FITC-декстрана. Следовательно, применение ВР5 профи-

лактрует иммунодефицитное состояние, отменяя иммунную функцию дендритных клеток [188].

На рисунке 10 представлено распределение фракций пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, при гидромодуле 1:3, температуре 35 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от концентрации папаина.

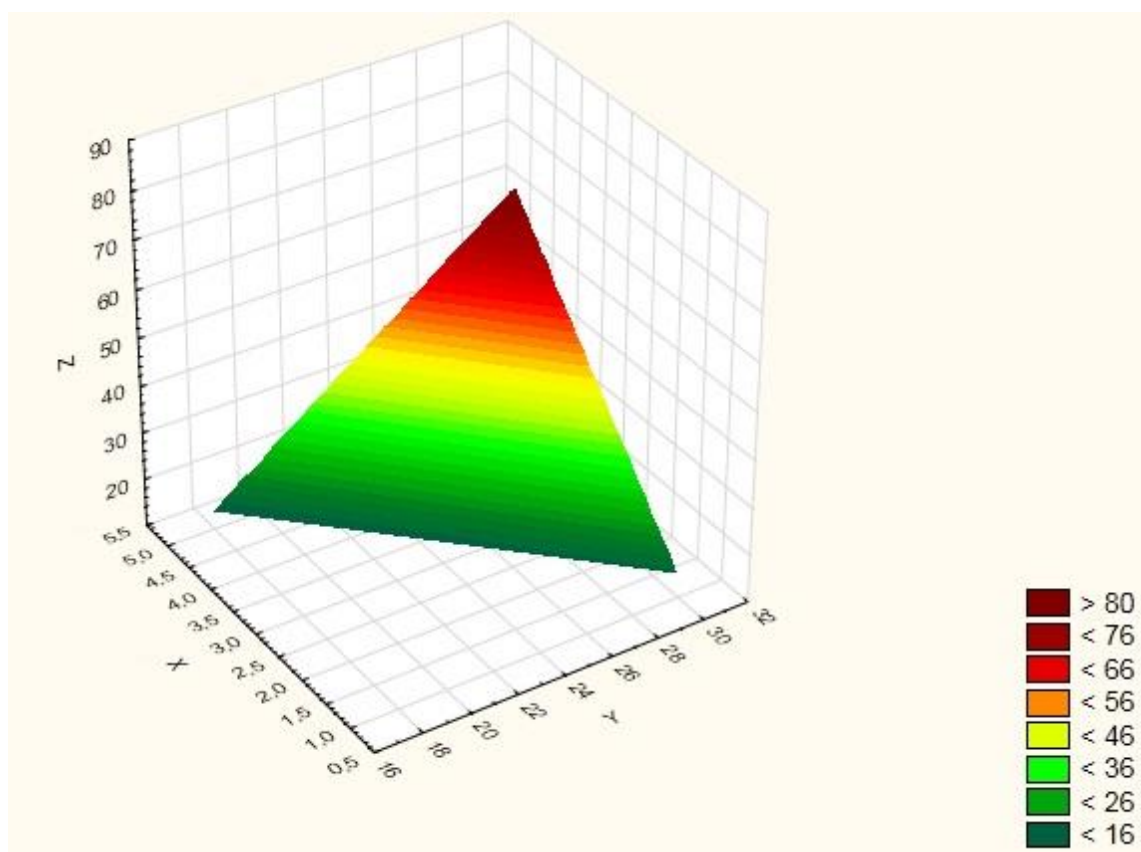


Рисунок 10 – Распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ при гидромодуле 1:3, температуре 35 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от концентрации папаина:

X – концентрация раствора NaCl; Y – молекулярная масса;
 Z – распределение фракций пептидов

В таблице 4 представлено распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 %, гидромодуле 1:3 и времени гидролиза 6 ч в зависимости от температуры гидролиза. Из таблицы следует, что температура гидролиза оказывает влияние на молекулярную массу фракций пептидов, выделенных из ФГФСЦБ. При температуре 36 °С количество исследуемого гидролизата молеку-

лярной массой от 27 до 18 кДа было максимальным – 85 %, в то время как при 35 °С и 37 °С – соответственно 63 % и 67 %. Следовательно, целесообразно проводить гидролиз сырья с целью выделения получения фракции с молекулярной массой 27–18 кДа при температуре 36 °С.

Таблица 4 – Распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ при разной температуре гидролиза, %

Молекулярная масса, кДа	Температура гидролиза, °С		
	35	36	37
27–30	16	5	20
27–18	63	85	67
Менее 18	21	10	13

Результаты электрофореза в полиакриламидном геле пептидов из ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 %, гидромодуле 1:3 и времени гидролиза 6 ч в зависимости от температуры гидролиза представлены на рисунке 11.

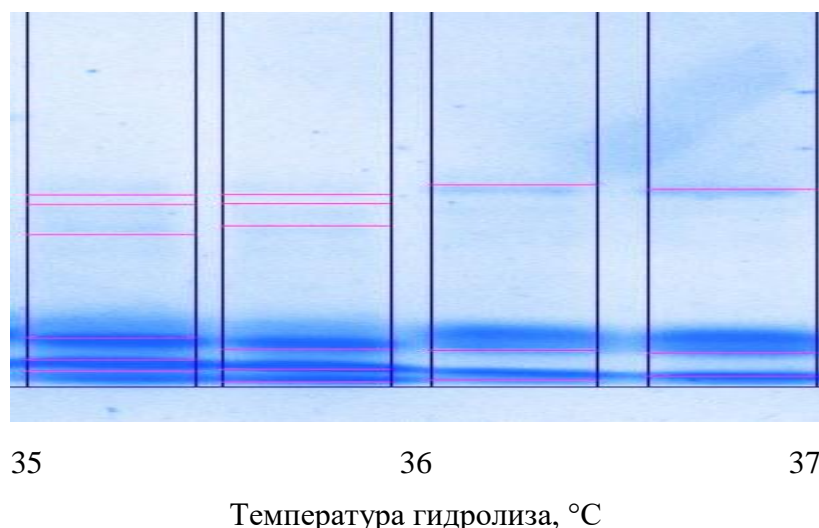


Рисунок 11 – Электрофорез в полиакриламидном геле пептидов из ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15, гидромодуле 1:3 и времени гидролиза 6 ч в зависимости от температуры гидролиза

Распределение фракций пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, при концентрации папаина 0,15 %, гидромодуле 1:3 и времени гидролиза 6 ч в зависимости от температуры представлено на рисунке 12.

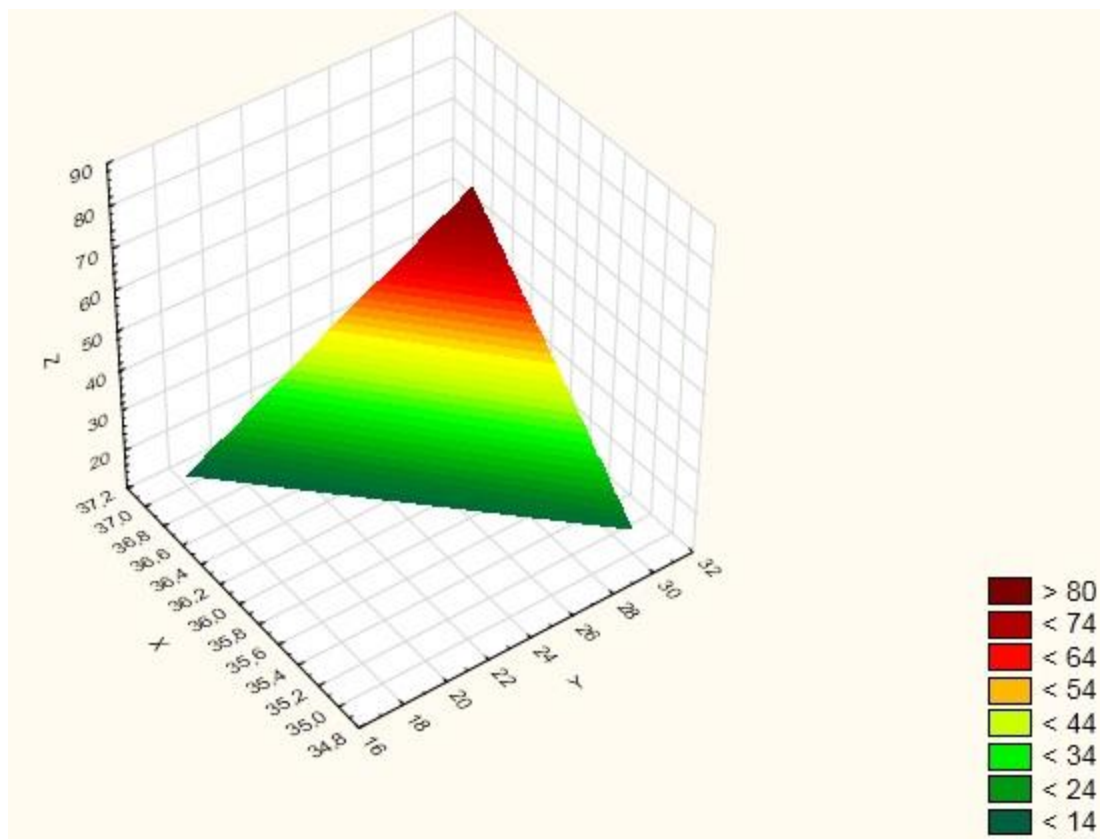


Рисунок 12 – Распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 %, гидромодуле 1:3 и времени гидролиза 6 ч в зависимости от температуры гидролиза:

X – температура экстрагирования, °С; Y – молекулярная масса;
 Z – распределение фракций пептидов

В таблице 5 представлено распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 %, температуре гидролиза 36 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от гидромодуля. Из таблицы следует, что изменение гидромодуля при гидролизе сырья оказало влияние на распределение молекулярной массы пептидов из ФГФСЦБ. При гидромодуле 1:3 отмечено наибольшее содержание пептидов с молекулярной массой 27–18 кДа – 78 %, а при гидромодуле 1:1 и 1:5 – 52 % и 41 % соответственно.

Таблица 5 – Распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ при разном гидромодуле, %

Молекулярная масса, кДа	Гидромодуль		
	1:1	1:3	1:5
27–30	38	8	47
27–18	52	78	41
Менее 18	10	14	12

Таким образом, наиболее эффективно проводить гидролиз сырья при соотношении фабрициевой сумки и дистиллированная вода 1:3.

Электрофорез в полиакриламидном геле пептидов из ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 %, температуре гидролиза 36 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от гидромодуля представлен на рисунке 13.

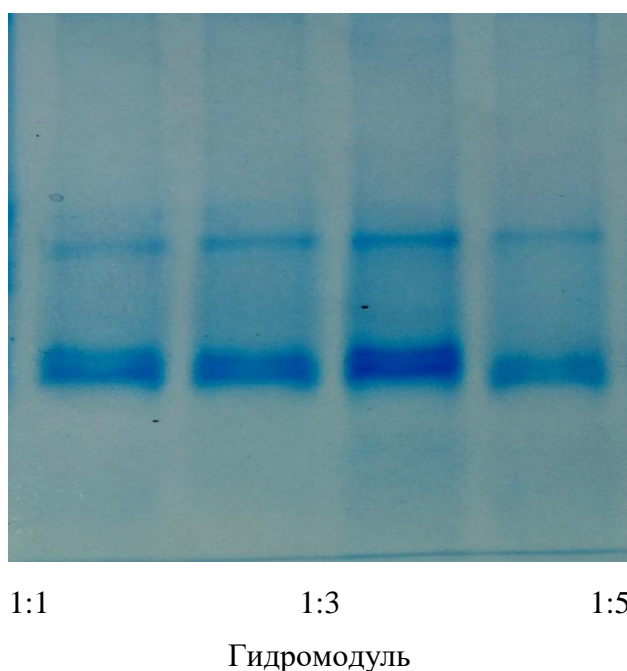


Рисунок 13 – Электрофорез в полиакриламидном геле пептидов ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 %, температуре гидролиза 36 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от гидромодуля

На рисунке 14 представлено распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 %, температуре гидролиза 36 °С, времени гидролиза 6 ч в зависимости от гидромодуля.

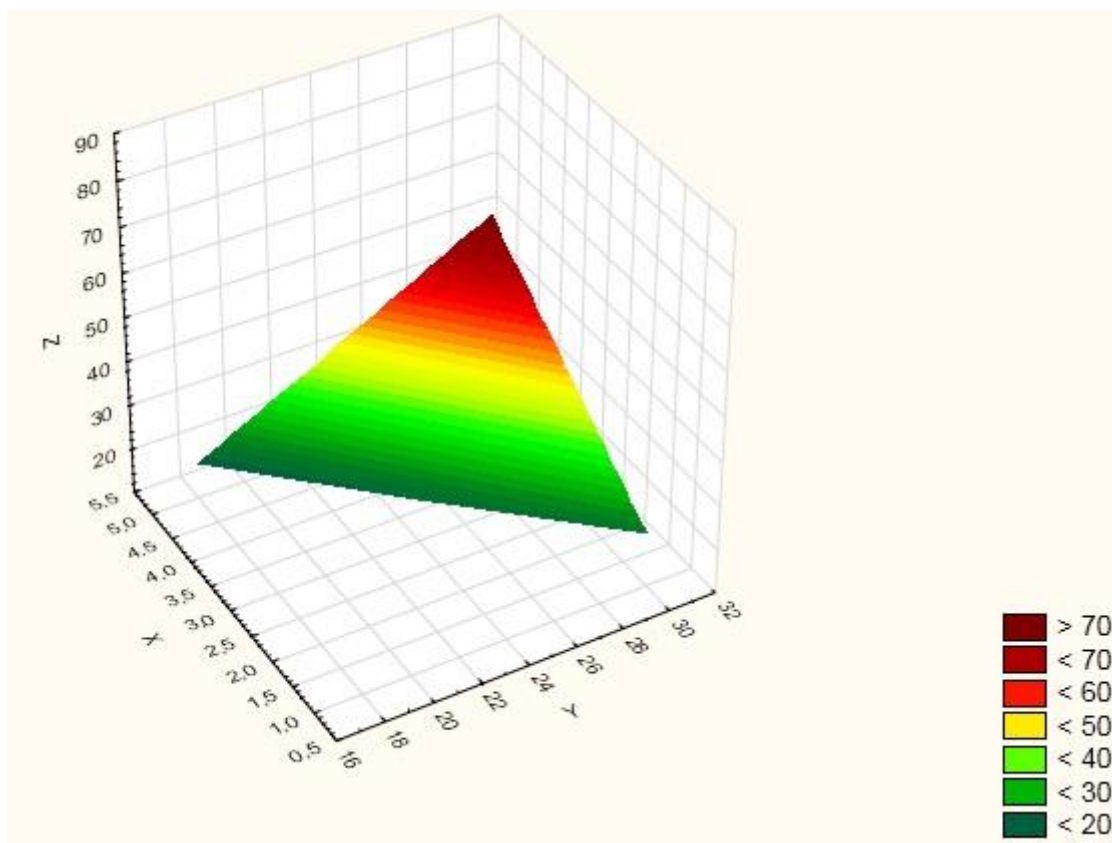


Рисунок 14 – Распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ
в зависимости от гидромодуля:
X – гидромодуль (от 1:1 до 1:5); Y – молекулярная масса;
Z – распределение фракций пептидов

В таблице 6 представлено распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ при концентрации папаина 0,15 %, температуре экстрагирования 36 °С, гидромодуле 1:3 в зависимости от времени гидролиза сырья.

Таблица 6 – Распределение фракций пептидов из ФГФСЦБ в зависимости от времени гидролиза сырья, %

Молекулярная масса, кДа	Время гидролиза, ч		
	4	6	8
30–27	17	11	36
27–18	75	82	56
Менее 18	8	7	9

Из данных таблицы 6 следует, что при времени гидролиза сырья 6 ч отмечается максимальное процентное содержание пептидов из ФГФСЦБ с молекулярной массой 27–18 кДа – 82 %, в то время как при времени гидролиза 4 и 8 ч – 75 % и 56 % соответственно.

Электрофорез в полиакриламидном геле пептидов из ФГФСЦБ при 0,15 % концентрации папаина, температуре экстрагирования 36 °С, гидромодуле 1:3 в зависимости от времени гидролиза представлен на рисунке 15.

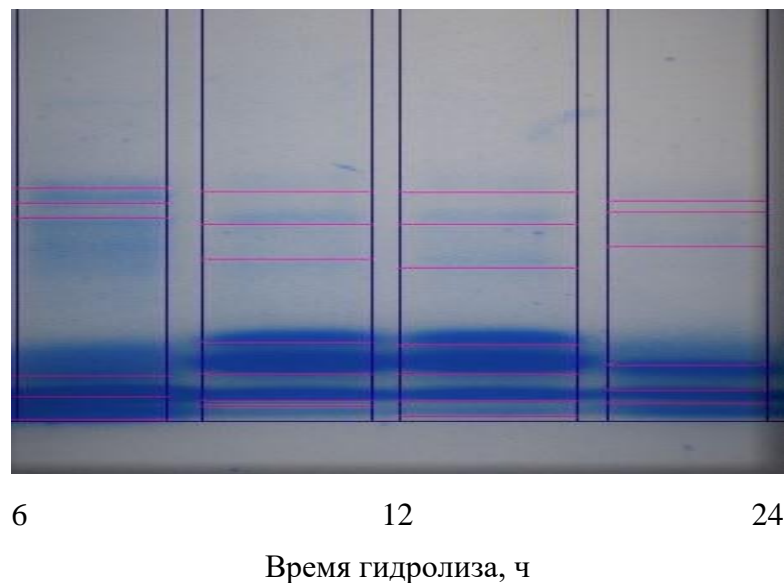


Рисунок 15 – Электрофорез в полиакриламидном геле пептидов из ФГФСЦБ при 0,15 % концентрации папаина, температуры экстрагирования 36 °С, гидромодуле 1:3 в зависимости от времени гидролиза

Полученные результаты позволяют констатировать, что гидролиз сырья для получения пептидов из ФГФСЦБ следует проводить при следующих технологических параметрах:

- время гидролиза 6 ч;
- гидромодуль 1:3;
- концентрация папаина от основного сырья 0,15 %;
- температура 36 °С.

Разработана технологическая схема производства ФГФСЦБ и выделения пептидов (рисунок 16).

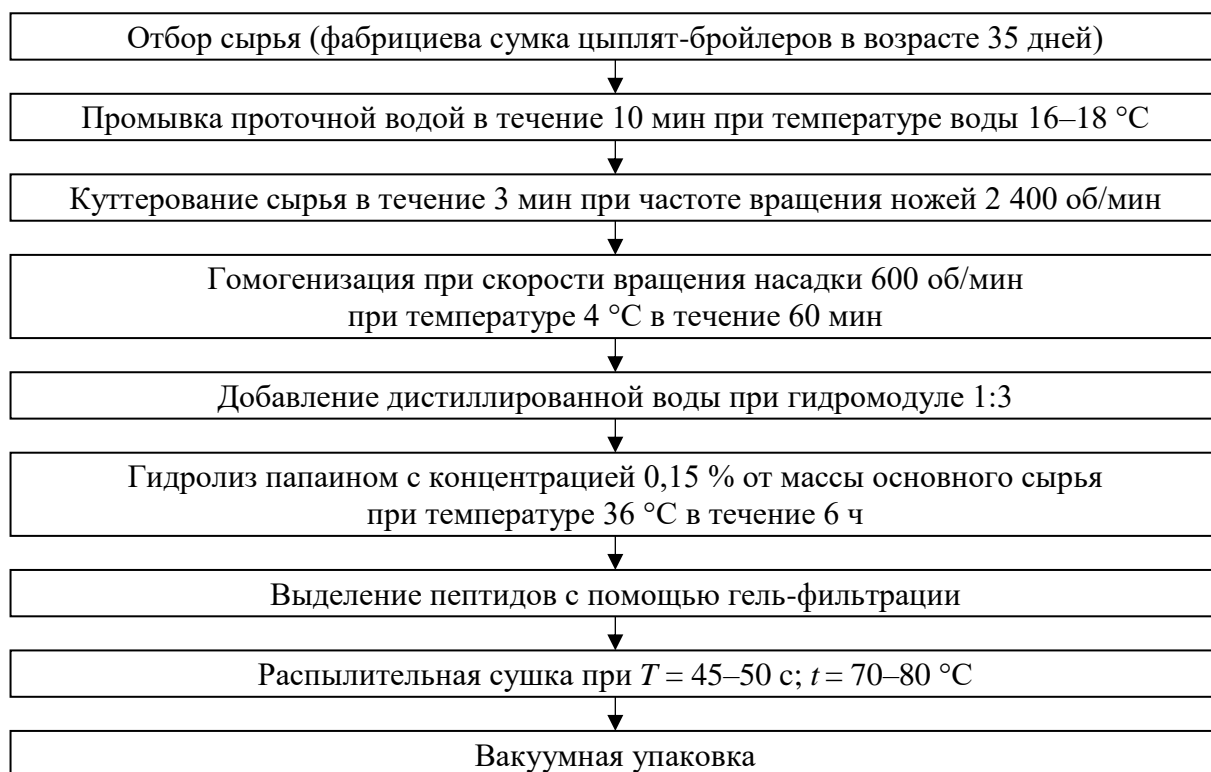


Рисунок 16 – Технологическая схема производства ФГФСЦБ и выделения пептидов

Содержание свободных аминокислот в папаиновом гидролизате фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, полученном при установленных технологических параметрах, представлено в таблице 7.

Таблица 7 – Содержание свободных аминокислот в ФГФСЦБ (время гидролиза 6 ч, гидромодуль 1:3, концентрация папаина 0,15 %, температура 36 °С)

Наименование аминокислоты	Количество, г/100 г белка	Наименование аминокислоты	Количество, г/100 г белка
Trp	1,3	Arg	1,3
Phe	4,7	Ala	4,7
Leu	12,5	Ser	12,5
Ile	8,3	Glu	8,3
Thr	4,2	Asp	4,2
Met	4,7	Cys	4,7
Lys	9,6	Tyr	9,6
Val	5,8	Gly	5,8
His	5,2	Итого	5,2

Из таблицы 7 следует, что ФГФСЦБ при времени гидролиза 6 ч, гидромодуле 1:3, концентрации папаина 0,15 % от основного сырья и температуре гидролиза 36 °С характеризуется высоким содержанием свободных аминокислот.

Исследования показали, что на долю лейцина, изолейцина, глутамина и тирозина приходится 12,5; 8,3; 9,6; 10,1 и 7,8 % общего содержания аминокислот в составе пептидов [94]. Указанные аминокислоты способствуют усилению иммунитета.

Представленная технология гидролиза фабрициевой сумки позволяет выделить преимущественно пептиды VP5 и VP11 с молекулярной массой 27–18 кДа, регулирующие дифференциацию В-клеток, активизирующие выработку антител и неспецифический иммунный ответ, по данным исследований [148; 188], в которых установлено, что бурсальные пептиды VP5 и VP11 с молекулярной массой 27–18 кДа являются иммуномодуляторами.

3.2 Оценка биологической активности пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров

3.2.1 Оценка токсичности пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров

Острую токсичность и подострую токсичность пептидов определяли с помощью макро- и микроскопирования органов нелинейных белых мышей на 1-е и 7-е сутки после окончания месячного внутрижелудочного введения пептидов в дозе 15 000 мг/кг.

Вскрытие мышей в оба срока исследования показало, что органы брюшной и грудной полости были нормальной величины, консистенции и окраски и не отличались от контроля. Серозные покровы брюшины и плевры гладкие и блестящие.

Гистологическое исследование органов пищеварительной системы не выявило отклонений от нормы. Ткани языка, желудка, тонкой кишки и толстой кишки не имели патологических изменений. Слизистая оболочка без повреждений и признаков воспаления. Состояние клеток эпителия на всех изученных участках пищеварительной трубки не отличается от контроля. Имевшаяся незначительная инфильтрация собственной пластинки слизистой тонкого и толстого кишечника лимфоцитами не отличалась от контроля.

В печени клетки паренхимы и строма также не имели отклонений от нормы.

В органах лимфатической системы – тимусе, селезёнке и мезентеральных лимфатических узлах – не отмечено активации пролиферативных процессов, образования и накопления иммунокомпетентных клеток. Тимус чётко разделён на узкое корковое вещество без признаков активации лимфоцитов и мозговое вещество с небольшим количеством лимфоцитов. В селезёнке белая пульпа занимает относительно небольшую площадь. Лимфатические фолликулы без центров размножения. Клеточный состав красной пульпы не отличается от контроля, преобладают лимфоциты. В лимфатических узлах все зоны относительно равномерно заполнены лимфоцитами, активность герминативных центров не выражена.

Микроскопический анализ тканей лёгких, взятых у экспериментальных и контрольных животных, не выявил патологических изменений. Воздухоносные пути и респираторный отдел лёгких имели нормальное строение. Стенки бронхиол и межальвеолярных перегородок тонкие, без признаков полнокровия и инфильтрации. Просветы бронхиол, альвеолярных ходов и альвеол чистые.

Мозговая оболочка, сосудистое русло, структура нервной ткани без отклонений от нормы.

Гистологическая картина ткани сердца у всех экспериментальных животных соответствовала норме. Мышечные волокна миокарда однотипно окрашены, с чёткими ядрами. Между кардиомиоцитами в капиллярах имеется небольшое количество крови, без инфильтрации и утолщения стромы.

Фотографии гистологических препаратов, полученных от контрольных и экспериментальных мышей, представлены на рисунке 17.

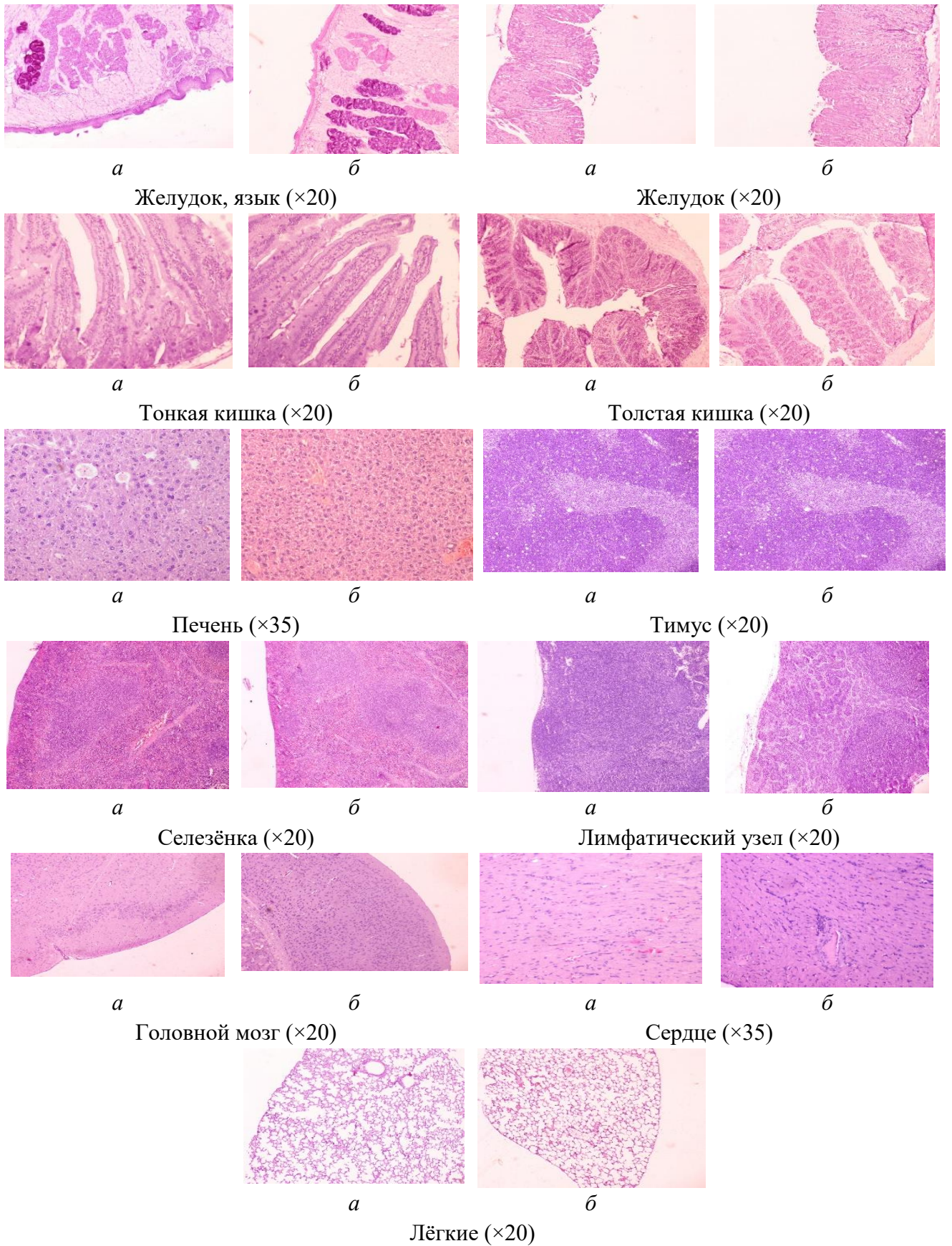


Рисунок 17 – Гистологические срезы органов интактных мышей (a) и мышей, получавших внутривенно в течение месяца пептиды в дозе 15 000 мг/кг (б)

Таким образом, микроскопическое исследование органов нелинейных белых мышей не выявило токсического действия пептидов при введении в желудок в дозе 15 000 мг/кг в течение 30 сут. Срезы выполняли с помощью прибора «Микротом замораживающий МЗ-2».

Патологические изменения в органах экспериментальных животных отсутствуют.

Проведены исследования влияния пептидов на морфологические изменения в органах пищеварительной системы мышей в возрастном аспекте. Лабораторные мыши опытной группы получали пептиды внутрь в дозе 0,1 г каждые 7 сут в течение 12 мес., мыши контрольной группы получали плацебо. Исследования проводили по истечении 12 мес. эксперимента.

На слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у мышей контрольной группы в возрастном аспекте регистрировали утолщение ворсинок кишечника, очаговые кровоизлияния в тканях (рисунок 18), а также воспалительный процесс, который начинался катаром, переходящий в гнойно-катаральный или гнойно-некротический процесс.

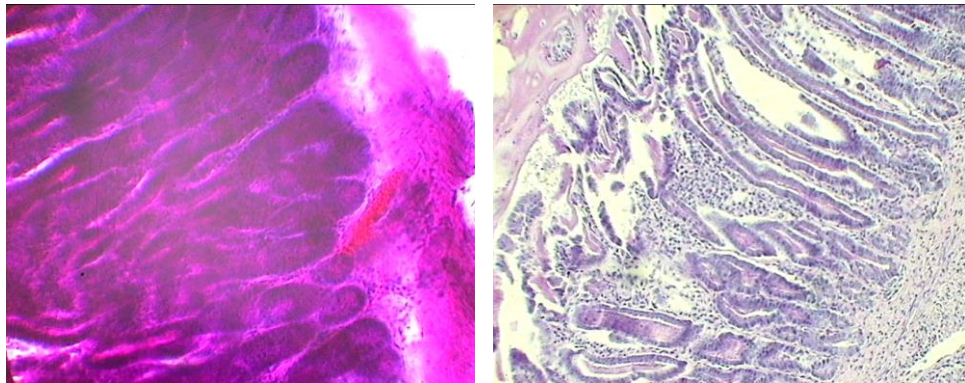


Рисунок 18 – Гиперсекреция бокаловидных клеток (увеличение $\times 150$)

В ворсинках кишечника наблюдали гиперсекрецию бокаловидных клеток. Образование фибринозной плёнки представлено на рисунке 19.

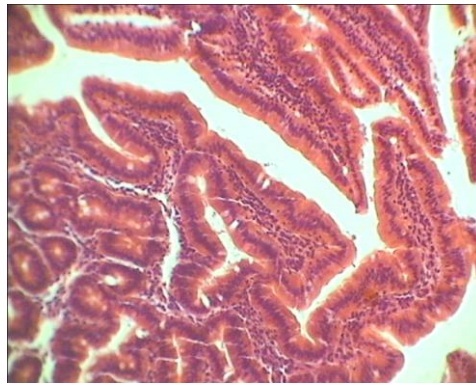


Рисунок 19 – Слизистая оболочка двенадцатиперстной кишки мышей (увеличение $\times 150$)

Слизистая оболочка двенадцатиперстной кишки у мышей опытной группы хорошо выражена. Ворсинки кишечника имеют четкие контуры с хорошо выраженными лимфоидными фолликулами (рисунок 20).

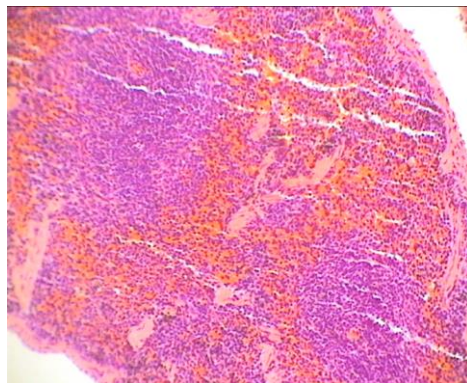
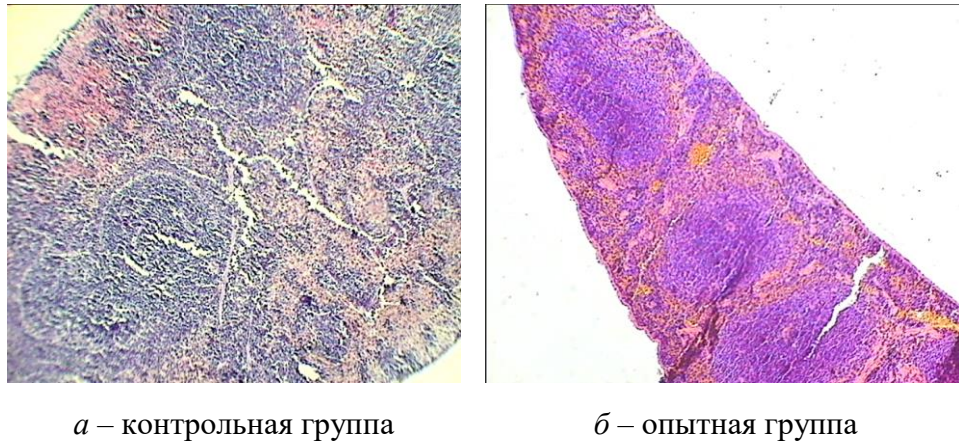


Рисунок 20 – Неравномерное кровенаполнение стенки кровеносных сосудов мышей (увеличение $\times 150$)

При морфологическом исследовании селезёнки наблюдались ярко выраженные возрастные изменения в виде воспалительного процесса. Отмечались десквамация эпителия и наличие плотных полиморфноклеточных инфильтраций.

Разрастание соединительной ткани капсулы и трабекул, неравномерное кровенаполнение стенки кровеносных сосудов представлено на рисунке 21а. При морфологическом исследовании селезёнки мышей опытной группы ярко выраженных возрастных изменений и хронического воспаления не наблюдалось. Капсула селе-

зёнки и трабекулы хорошо выражены. В основе строения капсулы селезёнки и трабекулы находится ретикулярная ткань (рисунок 21б).

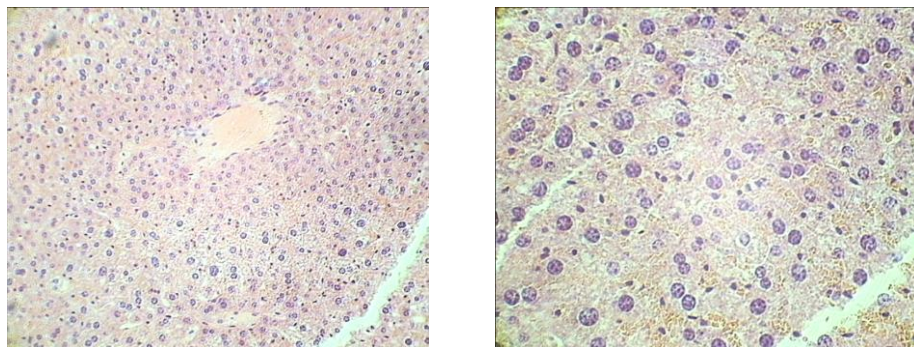


a – контрольная группа

б – опытная группа

Рисунок 21 – Капсула селезёнки и трабекулы мышей (увеличение $\times 150$)

Чётко представлена пульпа селезёнки, основу строения которой составляет ретикулярная ткань. Лимфатические узлы выраженные (рисунок 22б) по сравнению с контрольной группой (рисунок 22а).

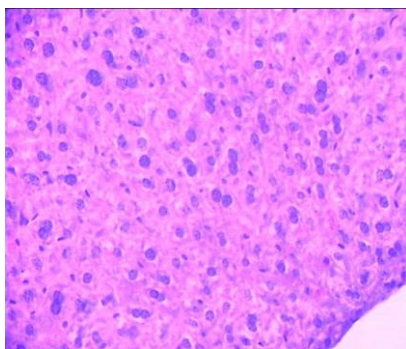


a – контрольная группа

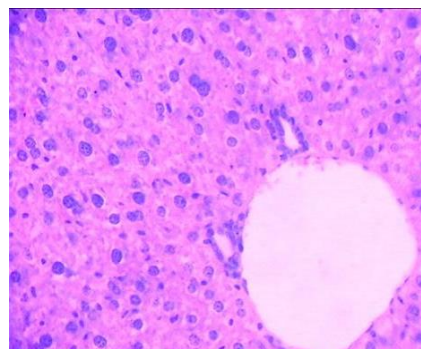
б – опытная группа

Рисунок 22 – Пульпа селезёнки мышей (увеличение $\times 150$)

При морфологическом исследовании печени наблюдалась ярко выраженная лейкоцитарная реакция в просвете крупных сосудов и в капиллярном русле. Прослеживалась активация лимфоидных фолликулов, наблюдалась полиморфноклеточная инфильтрация в системе триады печени (рисунок 23).



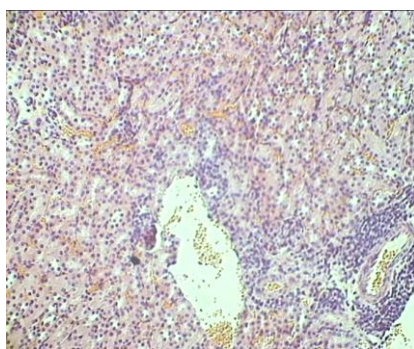
a – контрольная группа



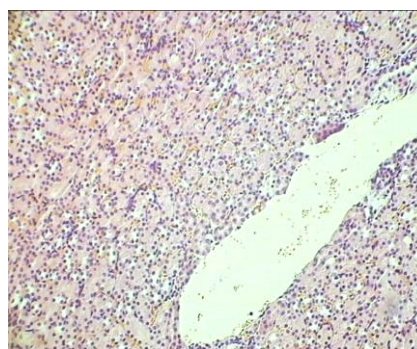
б – опытная группа

Рисунок 23 – Печень мышей (увеличение $\times 150$)

На ряде снимков выражен пролиферативный холангит, застойная гиперемия микроциркуляторного русла, явления гепатита (рисунок 24).



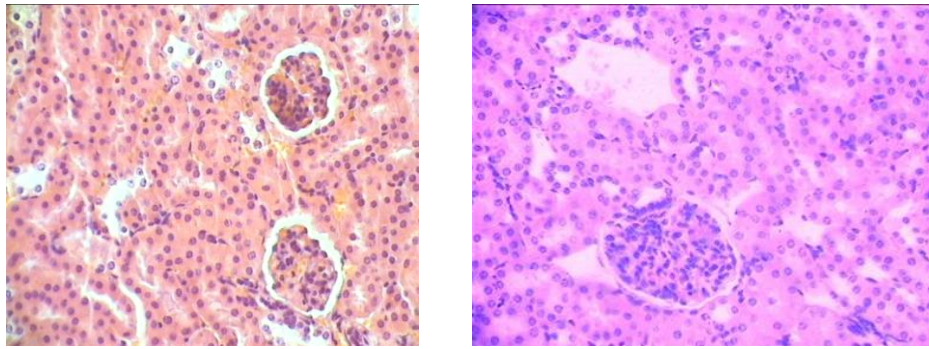
a – контрольная группа



б – опытная группа

Рисунок 24 – Пролиферативный холангит, застойная гиперемия микроциркуляторного русла печени мышей (увеличение $\times 150$)

Морфологическое исследование печени мышей опытной группы показало, что внутридольковые синусоидные венозные капилляры хорошо выражены и имеют чёткую структуру. Наблюдались двухъядерные гепатоциты, что говорит о процессе регенерации печени. Хорошо были видны ядра клеток Купфера. Хорошо выражены междольковая область печени, междольковая артерия (ветви печёночной артерии), междольковая вена (ветвь воротной вены) и междольковый желчный проток (рисунок 25).



a – контрольная группа

б – опытная группа

Рисунок 25 – Венозные капилляры печени мышей (увеличение $\times 150$)

При морфологическом исследовании в почках мышей контрольной группы наблюдалась гиперемия кровеносных сосудов с явлением застоя. Клубочки разной величины. В просвете некоторых канальцев обнаруживается наличие эритроцитов. В собирательных трубочках просветы канальцев практически не просматриваются. В эпителиальных клетках виден некроз по типу пикноза. Клубочки неодинаковой величины, перигломерулярно видны лейкоцитарно-клеточные инфильтраты.

Наблюдается наличие значительного количества лейкоцитарного инфильтрат, как в корковой, так и в мозговой зонах. В эпителии канальцев обнаружена зернистая дистрофия, а в некоторых канальцах – явление микронекроза эпителиоцитов. Обнаруживается кистозная гиперемия микроциркуляторного русла, образование кистозных полостей.

При морфологическом исследовании почек мышей опытной группы рисунок строения почек чётко выражен, явственно виден сосудистый клубочек, проксимальные и дистальные канальцы. Нефроэпителий хорошо воспринимает кислый краситель (окрашен в ярко-розовый цвет). Ядерная структура хорошо просматривается. Ядра тяготеют к базальному краю. Видны элементы мезонефроса. Клубочковый аппарат хорошо выражен, равномерно развит. Эпителий извитых канальцев чётко выражен, равномерно окрашен. Эпителиоциты однородные с явно выраженным рисунком. Ядра хорошо просматриваются. В собирательных трубочках наблюдаются набухание эпителия и некоторое сужение просвета, но ядра эпителиальных клеток чётко выражены. Сосуды умеренно гиперемированы.

В результате микроскопических исследований органов нелинейных белых мышей установлено отсутствие токсического действия пептидов при введении пептидов *per os* в дозе 15 000 мг/кг в течение 30 сут.

В результате гистологических исследований тканей органов экспериментальных мышей доказано, что использование пептидов в рационе животных в процессе жизненного цикла предотвращает патологические изменения внутренних органов на фоне экзогенного и эндогенного воздействия. Возможно, пептиды из ФГФСЦБ обладают иммунопротекторным действием, стимулируя клеточный иммунитет.

3.2.2 Изучение иммуномодулирующего действия пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, на мышцах линий C57BL/6, C57BL/10, C3H, SJL с экспериментальным синдромом иммунодефицита

Полученные данные свидетельствуют, что в группе животных, которым вводили физиологический раствор, только у мышей линии C3H отмечается уменьшение массы тела через 8 сут после воздействия. Масса тела мышей других линий значимо не изменялась. При этом однократное введение циклофосфамида (ЦФА) (200 мг/кг) вызывает снижение массы тела мышей линий C3H и C57BL/10 на 8-е сутки после инъекции (таблица 8). У мышей линии SJL значимых изменений массы тела не отмечается. Таким образом, введение ЦФА на 8-е сутки вызывает более активное снижение массы тела у мышей рассматриваемых линий.

Кроме того, введение ЦФА не приводило к летальности среди исследуемых животных, т. е. токсические и цитостатические эффекты не приводили к серьёзному нарушению компенсаторных механизмов. Введение пептидов в организм лабораторных животных не повлияло на динамику снижения массы тела мышей.

Таблица 8 – Масса экспериментальных животных различных линий до и после воздействия, г

Линия мышей	Физраствор		ЦФА		Пептиды + ЦФА	
	До	После	До	После	До	После
СЗН	26,48 ± 0,38	26,31 ± 0,30	26,32 ± 0,51	25,47 ± 0,49*	26,48 ± 0,38	25,73 ± 0,30*
С57BL/6	24,53 ± 0,95	24,40 ± 0,60	25,27 ± 0,68	23,46 ± 0,52*	24,38 ± 0,73	23,90 ± 0,58
С57BL/10	26,32 ± 0,25	26,31 ± 0,30	25,07 ± 0,51	23,13 ± 0,39*	25,58 ± 0,21	24,86 ± 0,27
SJL	21,62 ± 1,19	21,61 ± 1,03	22,56 ± 1,17	21,39 ± 1,00	23,46 ± 1,19	23,02 ± 0,72

Примечание – * Различия с показателем «до воздействия» достоверны (критерий Уилкоксона; $p < 0,05$).

Проведённые гематологические исследования свидетельствуют, что у мышей линии СЗН через 8 сут после введения ЦФА отмечается повышение количества лейкоцитов в основном за счёт средних клеток (к которым относятся моноциты, эозинофилы и базофилы) и гранулоцитов (таблица 9).

Таблица 9 – Гематологические показатели периферической крови мышей линии СЗН

Показатель крови	Контроль	ЦФА	Пептиды + ЦФА
WBC	2,31 ± 0,36	4,97 ± 0,68*	3,85 ± 0,43*
LYM#	1,56 ± 0,24	2,35 ± 0,29	1,89 ± 0,34
MID#	0,69 ± 0,11	2,47 ± 0,38*	1,75 ± 0,32*
GRN#	0,06 ± 0,02	0,15 ± 0,02*	0,08 ± 0,01*
RBC	9,49 ± 0,19	7,72 ± 0,22*	8,82 ± 0,25*
Hb	14,34 ± 0,36	11,88 ± 0,14*	13,78 ± 0,14*
HCT	44,71 ± 0,85	36,32 ± 1,01*	39,63 ± 1,84*
MCV	47,15 ± 0,27	47,07 ± 0,14	47,68 ± 0,15
MCH	15,10 ± 0,11	15,45 ± 0,36	15,32 ± 0,27
MCHC	32,08 ± 0,25	32,87 ± 0,78	32,87 ± 0,78
RDW	15,23 ± 0,26	16,28 ± 0,13*	15,84 ± 0,10*
PLT	606,75 ± 14,53	738,50 ± 22,13*	693,57 ± 25,18*
PCT	0,35 ± 0,01	0,45 ± 0,02*	0,39 ± 0,03*
MPV	5,73 ± 0,04	6,10 ± 0,06*	5,93 ± 0,05*
PDW	11,24 ± 0,08	11,38 ± 0,14	11,29 ± 0,12

Примечание – * Различия с контролем достоверны (критерий Манна – Уитни, $p < 0,05$).

При этом доля средних клеток значительно повышается, а лимфоцитов – снижается (относительная лимфопения). Также снижается содержание эритроцитов, гемоглобина и гематокрит. Показатель гетерогенности эритроцитов выше, чем в контроле. Содержание тромбоцитов, тромбоцит и средний объем тромбоцитов повышаются относительно контроля. Так, абсолютное содержание лейкоцитов (WBC) увеличилось по сравнению с контрольной группой на 66,7 %, в то время как во второй опытной группе выросло на 215,1 %. Количество средних клеток (MID#) во второй группе возросло на 357,9 %, в третьей – на 253,6 %. Тромбоцит (PCT) во второй группе увеличился на 28,6 %, в третьей – на 11,4 %.

У мышей линии C57BL/6 через 8 сут после введения ЦФА отмечается значимое снижение абсолютного количества лимфоцитов на фоне роста числа средних клеток (таблица 10).

Таблица 10 – Гематологические показатели периферической крови мышей линии C57BL/6

Показатель крови	Контроль	ЦФА	Пептиды + ЦФА
WBC	4,05 ± 0,47	4,25 ± 1,61	4,12 ± 0,24
LYM#	3,21 ± 0,36	1,37 ± 0,43*	2,47 ± 0,35*
MID#	0,73 ± 0,10	2,67 ± 1,08*	1,45 ± 0,15*
GRN#	0,12 ± 0,02	0,22 ± 0,10	0,18 ± 0,10
RBC	9,98 ± 0,24	8,28 ± 0,27*	9,25 ± 0,31*
Hb	14,18 ± 0,37	11,42 ± 0,22*	12,78 ± 0,26*
HCT	42,25 ± 1,30	35,05 ± 1,19*	39,23 ± 1,14*
MCV	42,32 ± 0,36	42,33 ± 0,23	42,31 ± 0,18
MCH	14,10 ± 0,29	13,80 ± 0,14	14,03 ± 0,17
MCHC	33,36 ± 0,68	32,55 ± 0,40	33,13 ± 0,51
RDW	15,75 ± 0,21	15,80 ± 0,10	15,76 ± 0,12
PLT	691,50 ± 32,57	597,00 ± 32,32	642,15 ± 43,81
PCT	0,37 ± 0,02	0,36 ± 0,02	0,37 ± 0,02
MPV	5,35 ± 0,06	5,97 ± 0,05*	5,73 ± 0,04*
PDW	10,37 ± 0,09	11,05 ± 0,07*	10,89 ± 0,05*

Примечание – * Различия с контролем достоверны ($p < 0,05$).

Доля лимфоидных клеток периферической крови значительно снижается, а доля средних клеток и нейтрофилов растёт. Содержание эритроцитов, гемоглобина и гематокрит у мышей, которым вводился ЦФА, ниже, чем в контроле. Что касается тромбоцитарного ростка, повышается средний объем кровяных пластинок и показатель их гетерогенности, а количество тромбоцитов значимо не меняется. У животных третьей группы на фоне введения пептидов из ФГФСЦБ изменения гематологических показателей менее выражены, чем во второй группе. Так, абсолютное содержание лимфоцитов (LYM#) во второй группе снизилось на 57,3 %, в третьей – на 23,1 %. MID# во второй группе возросло на 265 %, в третьей – на 98,7 %.

Гематологический анализ периферической крови мышей линии C57BL/10 после внутрибрюшинного введения ЦФА на 8-е сутки указывает на рост абсолютного и относительного количества средних клеток и нейтрофилов, при этом доля лимфоцитов снижается относительно контроля (таблица 11).

Таблица 11 – Гематологические показатели периферической крови мышей линии C57BL/10

Показатель	Контроль	ЦФА	Пептиды + ЦФА
WBC	2,93 ± 0,51	4,23 ± 0,81	3,78 ± 0,53
LYM#	2,37 ± 0,41	1,40 ± 0,29	1,94 ± 0,36
MID#	0,52 ± 0,10	2,62 ± 0,67*	1,48 ± 0,53*
GRN#	0,05 ± 0,02	0,22 ± 0,05*	0,14 ± 0,02*
RBC	9,93 ± 0,16	8,39 ± 0,35*	8,92 ± 0,46*
Hb	14,58 ± 0,32	11,23 ± 0,37*	12,15 ± 0,35*
HCT	41,85 ± 0,84	34,77 ± 1,66*	38,45 ± 0,93*
MCV	42,14 ± 0,28	41,40 ± 0,33	41,36 ± 0,31
MCH	14,68 ± 0,28	13,42 ± 0,22*	14,01 ± 0,20*
MCHC	34,78 ± 0,55	32,50 ± 0,67*	33,75 ± 0,58*
RDW	16,01 ± 0,14	15,52 ± 0,12	15,87 ± 0,15
PLT	818,50 ± 31,39	677,83 ± 71,39	783,52 ± 42,36
PCT	0,45 ± 0,03	0,40 ± 0,04	0,42 ± 0,02
MPV	5,48 ± 0,09	6,02 ± 0,14*	5,96 ± 0,12*
PDW	10,43 ± 0,06	11,10 ± 0,20*	10,89 ± 0,10*
Примечание – * Различия с контролем достоверны ($p < 0,05$).			

У мышей линии C57BL/10 содержание эритроцитов, гемоглобина и гематокрит на фоне введения ЦФА уменьшается, в том числе это касается и среднего содержания гемоглобина в клетке, а также средней концентрации гемоглобина. Средний объем тромбоцитов и показатель анизоцитоза тромбоцитов выше, чем в контроле. Следует отметить, что введение пептидов лабораторным животным снижает значения показателей периферической крови при введении ЦФА. Так, во второй опытной группе WBC увеличилось на 44,4 %, MID# – на 503,8 %, абсолютное содержание гранулоцитов (GRN#) – на 440 %, а в третьей группе значения данных показателей по сравнению с контролем были выше на 29,0 %; 284,6 % и 280 % соответственно.

У мышей линии SJL отмечалось снижение абсолютного и относительного количества лимфоцитов на 8-е сутки после введения ЦФА, причем в третьей группе снижение этого показателя менее выражено, чем во второй (таблица 12).

Таблица 12 – Гематологические показатели периферической крови мышей линии SJL

Показатель крови	Контроль	ЦФА	Пептиды + ЦФА
WBC	7,42 ± 0,69	5,40 ± 0,80	6,35 ± 0,71
LYM#	6,53 ± 0,59	3,52 ± 0,47*	4,89 ± 0,51*
MID#	0,82 ± 0,18	1,76 ± 0,41	1,15 ± 0,27
GRN#	0,07 ± 0,02	0,13 ± 0,04	0,11 ± 0,02
RBC	9,88 ± 0,17	8,41 ± 0,49*	9,21 ± 0,35*
Hb	13,75 ± 0,20	11,15 ± 0,77*	12,48 ± 0,26*
HCT	43,28 ± 1,07	36,26 ± 2,20*	41,14 ± 1,38*
MCV	43,83 ± 0,45	43,07 ± 0,33	43,48 ± 0,39
MCH	13,95 ± 0,17	13,28 ± 0,27	13,72 ± 0,19
MCHC	31,82 ± 0,57	30,85 ± 0,55	31,12 ± 0,56
RDW	15,88 ± 0,20	15,48 ± 0,17	15,71 ± 0,18
PLT	827,33 ± 45,07	859,75 ± 136,05	838,47 ± 93,18
PCT	0,49 ± 0,03	0,57 ± 0,09	0,54 ± 0,05
MPV	5,95 ± 0,03	6,60 ± 0,12*	6,34 ± 0,10*
PDW	10,88 ± 0,09	11,52 ± 0,22*	11,14 ± 0,20*
Примечание – * Различия с контролем достоверны ($p < 0,05$).			

При этом содержание средних клеток и гранулоцитов у мышей линии SJL повышается. Количество эритроцитов, гемоглобина, гематокрит снижаются относительно контроля. Снижение этих показателей в третьей группе выражено меньше, чем во второй. Средний объем тромбоцитов и показатель их анизоцитоза достоверно растут во второй и третьей группах. Следует отметить, что в третьей группе животных менее выражены изменения объёма тромбоцитов.

Таким образом, для всех исследованных линий мышей на 8-е сутки после введения ЦФА характерно изменение лейкоцитарной формулы в сторону снижения доли лимфоцитов на фоне повышения доли средних клеток и нейтрофилов. Снижение количества эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и повышение среднего объёма тромбоцитов также отмечается у мышей всех линий. У мышей линий C57BL/6 и SJL это сопровождается также абсолютной лимфопенией. По-видимому, данные изменения можно рассматривать в качестве признака иммунодефицитного состояния. При этом в третьей группе на фоне введения пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, признаки иммунодефицитного состояния выражены слабее.

Уменьшение абсолютного количества эритроцитов, гемоглобина, гематокрита также, по-видимому, обусловлено цитостатическим действием ЦФА. Стойкая анемия также может рассматриваться в качестве симптома иммунодефицитного состояния. Так, из описания действия препарата на основе ЦФА известны такие его побочные эффекты, как миелодепрессия, лейкопения, агранулоцитоз, тромбоцитопения, анемия. Тромбоцитопения, агранулоцитоз у исследуемых мышей не обнаружались. Вероятно, указанные эффекты ЦФА могут отмечаться при использовании более высоких доз, многократном применении препарата.

Анализ клеточности красного костного мозга показал, что через 8 сут после однократного внутрибрюшинного введения ЦФА увеличивается общее число миелокариоцитов у всех исследованных линий мышей. При этом количество митозов достоверно по сравнению с контролем повышается только у мышей линии SJL.

Что касается отдельных типов миелокариоцитов, то у мышей линии СЗН значительно по сравнению с контролем увеличивается абсолютное количество полихроматофильных нормобластов, моноцитов, лимфобластов, лимфоцитов (таблица 13). При этом абсолютное количество ретикулярных клеток и эритробластов меньше,

чем в контроле. Доля ретикулоцитов, эритробластов также ниже, чем в контроле, равно как и промиелоцитов. Относительное количество полихроматофильных нормобластов, моноцитов, лимфобластов растет.

Таблица 13 – Миелограмма мышей линии СЗН через 8 сут (абсолютные значения)

Тип клеток	Значение, $\cdot 10^6$ (бедро)		
	Физраствор	ЦФА	Пептиды+ ЦФА
Эритробласты	0,35 ± 0,02	0,25 ± 0,02*	0,31 ± 0,02*
Пронормобласт	0,36 ± 0,02	0,36 ± 0,02	0,36 ± 0,02
Базофильные нормобласты	0,69 ± 0,04	0,73 ± 0,03	0,71 ± 0,03
Полихроматофильные нормобласты	0,92 ± 0,06	1,20 ± 0,03*	0,95 ± 0,03*
Оксифильные нормобласты	0,52 ± 0,02	0,56 ± 0,03	0,54 ± 0,03
Ретикулярные клетки	0,17 ± 0,01	0,11 ± 0,01*	0,13 ± 0,01*
Нормоциты	1,18 ± 0,05	1,15 ± 0,04	1,16 ± 0,04
Эритроидный ряд	4,01 ± 0,11	4,24 ± 0,11	4,21 ± 0,11
Миелобласты	0,41 ± 0,01	0,41 ± 0,02	0,41 ± 0,02
Промиелоциты	0,44 ± 0,02	0,40 ± 0,01	0,42 ± 0,01
Миелоциты	0,57 ± 0,03	0,55 ± 0,03	0,56 ± 0,03
Метамиелоциты	0,57 ± 0,05	0,47 ± 0,03	0,49 ± 0,03
Нейтрофилы юные	1,36 ± 0,06	1,53 ± 0,06	1,42 ± 0,06
Нейтрофилы палочкоядерные	3,37 ± 0,08	3,49 ± 0,15	3,42 ± 0,15
Нейтрофилы сегментоядерные	4,12 ± 0,12	4,52 ± 0,14	4,35 ± 0,14
Нейтрофильный ряд	10,84 ± 0,17	11,38 ± 0,11	11,17 ± 0,11
Базофильный ряд	0,36 ± 0,02	0,38 ± 0,04	0,37 ± 0,04
Эозинофильный ряд	0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01
Моноциты	0,86 ± 0,03	1,00 ± 0,03*	0,94 ± 0,03*
Макрофаги	1,02 ± 0,04	1,13 ± 0,04	1,09 ± 0,04
Моноцитарный ряд	1,87 ± 0,06	2,13 ± 0,06*	2,11 ± 0,06*
Лимфобласты	0,83 ± 0,02	1,04 ± 0,03*	0,98 ± 0,03*
Лимфоциты	1,00 ± 0,02	1,14 ± 0,05*	1,08 ± 0,05*
Плазмоциты	0,17 ± 0,02	0,14 ± 0,03	0,16 ± 0,03
Лимфоидный ряд	2,00 ± 0,03	2,32 ± 0,04*	2,21 ± 0,04*
Мегакариоцитарный ряд	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Митозы	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Всего	19,38 ± 0,18	20,67 ± 0,21*	20,55 ± 0,19*

Примечание – * Различия с контролем достоверны ($p < 0,05$).

У мышей линии C57BL/6 через 8 сут после введения ЦФА снижается абсолютное и относительное количество ретикулярных клеток, лимфобластов и лимфоцитов, доля метамиелоцитов и макрофагов также оказывается ниже, чем в контроле (таблица 14). При этом повышается количество пронормобластов, нормоцитов, юных, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, а также клеток базофильного ряда.

Таблица 14 – Миелограмма мышей линии C57BL/6 через 8 сут (абсолютные значения)

Тип клеток	Значение, $\cdot 10^6$ (бедро)		
	Физраствор	ЦФА	Пептиды + ЦФА
Эритробласты	0,48 ± 0,02	0,51 ± 0,02	0,50 ± 0,02
Пронормобласт	0,48 ± 0,01	0,55 ± 0,03*	0,52 ± 0,02*
Базофильные нормобласты	0,94 ± 0,02	0,96 ± 0,03	0,95 ± 0,03
Полихроматофильные нормобласты	1,06 ± 0,05	1,26 ± 0,10	1,18 ± 0,10
Оксифильные нормобласты	0,71 ± 0,07	0,82 ± 0,07	0,78 ± 0,07
Ретикулярные клетки	0,28 ± 0,02	0,19 ± 0,02*	0,24 ± 0,02*
Нормоциты	1,68 ± 0,04	1,96 ± 0,08*	1,72 ± 0,08*
Эритроидный ряд	5,34 ± 0,12	6,07 ± 0,20*	5,78 ± 0,16*
Миелобласты	0,49 ± 0,03	0,54 ± 0,01	0,52 ± 0,01
Промиелоциты	0,51 ± 0,03	0,57 ± 0,02	0,54 ± 0,02
Миелоциты	0,72 ± 0,03	0,66 ± 0,06	0,69 ± 0,05
Метамиелоциты	0,80 ± 0,03	0,64 ± 0,06	0,75 ± 0,05
Нейтрофилы юные	1,30 ± 0,06	1,96 ± 0,04*	1,75 ± 0,04*
Нейтрофилы палочкоядерные	4,08 ± 0,21	5,04 ± 0,11*	5,01 ± 0,11*
Нейтрофилы сегментоядерные	4,99 ± 0,11	6,16 ± 0,08*	5,75 ± 0,08*
Нейтрофильный ряд	12,89 ± 0,14	15,57 ± 0,13*	14,69 ± 0,13*
Базофильный ряд	0,44 ± 0,02	0,81 ± 0,02*	0,68 ± 0,02*
Эозинофильный ряд	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,03
Моноциты	0,87 ± 0,02	0,86 ± 0,03	0,86 ± 0,03
Макрофаги	1,14 ± 0,05	0,99 ± 0,04	1,12 ± 0,04
Моноцитарный ряд	2,01 ± 0,08	1,86 ± 0,06	1,98 ± 0,07
Лимфобласты	1,01 ± 0,02	0,64 ± 0,02*	0,88 ± 0,02*
Лимфоциты	1,21 ± 0,04	0,81 ± 0,06*	0,95 ± 0,05*
Плазмоциты	0,21 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,24 ± 0,03
Лимфоидный ряд	2,43 ± 0,03	1,71 ± 0,08*	1,90 ± 0,06*

Продолжение таблицы 14

Тип клеток	Значение, $\cdot 10^6$ (бедро)		
	Физраствор	ЦФА	Пептиды + ЦФА
Мегакариоцитарный ряд	0,04 \pm 0,01	0,05 \pm 0,02	0,05 \pm 0,02
Митозы	0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01
Всего	23,50 \pm 0,22	26,33 \pm 0,21*	25,52 \pm 0,21*
Примечание – * Различия с контролем достоверны ($p < 0,05$).			

У мышей линии C57BL/10 введение ЦФА вызывает к 8-м суткам снижение количества эритробластов, ретикулярных клеток, нормоцитов, миелоцитов, метамиелоцитов, лимфоцитов; кроме того, уменьшается доля базофильных и оксифильных нормобластов, макрофагов (таблица 15). При этом количество юных, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов повышается, увеличивается содержание клеток базофильного ростка, моноцитов, лимфобластов и мегакариоцитов. Доля сегментов, базофилов и мегакариоцитов выше контроля.

Таблица 15 – Миелограмма мышей линии C57BL/10 через 8 сут (абсолютные значения)

Тип клеток	Значение, $\cdot 10^6$ (бедро)		
	Физраствор	ЦФА	Пептиды + ЦФА
Эритробласты	0,37 \pm 0,01	0,31 \pm 0,01*	0,35 \pm 0,01*
Пронормобласт	0,39 \pm 0,02	0,36 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01
Базофильные нормобласты	0,81 \pm 0,03	0,73 \pm 0,02	0,77 \pm 0,02
Полихроматофильные нормобласты	1,06 \pm 0,03	1,12 \pm 0,05	1,10 \pm 0,04
Оксифильные нормобласты	0,71 \pm 0,03	0,64 \pm 0,03	0,67 \pm 0,03
Ретикулярные клетки	0,17 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01*	0,14 \pm 0,01*
Нормоциты	1,42 \pm 0,04	1,29 \pm 0,02*	1,35 \pm 0,02*
Эритроидный ряд	4,77 \pm 0,10	4,45 \pm 0,08	4,62 \pm 0,09
Миелобласты	0,40 \pm 0,02	0,43 \pm 0,01	0,41 \pm 0,01
Промиелоциты	0,42 \pm 0,02	0,41 \pm 0,01	0,41 \pm 0,01
Миелоциты	0,57 \pm 0,02	0,46 \pm 0,02*	0,48 \pm 0,02*
Метамиелоциты	0,67 \pm 0,03	0,51 \pm 0,03*	0,59 \pm 0,03*
Нейтрофилы юные	1,16 \pm 0,02	1,40 \pm 0,03*	1,25 \pm 0,03*
Нейтрофилы палочкоядерные	3,10 \pm 0,07	3,69 \pm 0,05*	3,44 \pm 0,05*

Продолжение таблицы 15

Тип клеток	Значение, $\cdot 10^6$ (бедро)		
	Физраствор	ЦФА	Пептиды + ЦФА
Нейтрофилы сегментоядерные	$3,57 \pm 0,05$	$4,34 \pm 0,12^*$	$4,22 \pm 0,09^*$
Нейтрофильный ряд	$9,89 \pm 0,07$	$11,24 \pm 0,17^*$	$10,24 \pm 0,12^*$
Базофильный ряд	$0,30 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,03^*$	$0,38 \pm 0,03^*$
Эозинофильный ряд	$0,03 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,02$
Моноциты	$0,73 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,04^*$	$0,82 \pm 0,02^*$
Макрофаги	$0,99 \pm 0,04$	$0,92 \pm 0,03$	$0,95 \pm 0,03$
Моноцитарный ряд	$1,73 \pm 0,04$	$1,77 \pm 0,05$	$1,75 \pm 0,05$
Лимфобласты	$0,69 \pm 0,02$	$0,78 \pm 0,02^*$	$0,74 \pm 0,02^*$
Лимфоциты	$1,09 \pm 0,05$	$0,86 \pm 0,04^*$	$0,98 \pm 0,04^*$
Плазмоциты	$0,16 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,02$
Лимфоидный ряд	$1,93 \pm 0,06$	$1,79 \pm 0,05$	$1,85 \pm 0,05$
Мегакариоцитарный ряд	$0,03 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,01^*$	$0,05 \pm 0,01^*$
Митозы	$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$
Всего	$18,86 \pm 0,14$	$20,00 \pm 0,26^*$	$19,50 \pm 0,20^*$
Примечание – * Различия с контролем достоверны ($p < 0,05$).			

Введение ЦФА мышам линии SJL приводит к снижению абсолютного и относительного количества базофильных нормобластов и доли лимфоцитов (таблица 16). При этом отмечается рост числа миелобластов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, базофилов, лимфобластов.

Таблица 16 – Миелограмма мышей линии SJL через 8 сут (абсолютные значения)

Тип клеток	Значение, $\cdot 10^6$ (бедро)		
	Физраствор	ЦФА	Пептиды + ЦФА
Эритробласты	$0,29 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,02$
Пронормобласт	$0,36 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,01$
Базофильные нормобласты	$0,88 \pm 0,03$	$0,72 \pm 0,02^*$	$0,81 \pm 0,02^*$
Полихроматофильные нормобласты	$1,04 \pm 0,04$	$1,17 \pm 0,05$	$1,11 \pm 0,05$
Оксифильные нормобласты	$0,47 \pm 0,03$	$0,48 \pm 0,03$	$0,48 \pm 0,03$
Ретикулярные клетки	$0,13 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,02$
Нормоциты	$1,35 \pm 0,02$	$1,33 \pm 0,05$	$1,34 \pm 0,05$

Продолжение таблицы 16

Тип клеток	Значение, ·10 ⁶ (бедро)		
	Физраствор	ЦФА	Пептиды + ЦФА
Эритроидный ряд	4,39 ± 0,05	4,32 ± 0,07	4,37 ± 0,06
Миелобласты	0,38 ± 0,01	0,43 ± 0,02*	0,41 ± 0,02*
Промиелоциты	0,41 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,43 ± 0,01
Миелоциты	0,48 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,48 ± 0,03
Метамиелоциты	0,61 ± 0,01	0,58 ± 0,04	0,60 ± 0,02
Нейтрофилы юные	1,32 ± 0,02	1,31 ± 0,05	1,31 ± 0,05
Нейтрофилы палочкоядерные	3,13 ± 0,09	3,36 ± 0,06*	3,25 ± 0,07*
Нейтрофилы сегментоядерные	3,90 ± 0,07	4,46 ± 0,11*	4,37 ± 0,10*
Нейтрофильный ряд	10,22 ± 0,08	11,07 ± 0,10*	10,55 ± 0,10*
Базофильный ряд	0,36 ± 0,01	0,44 ± 0,02*	0,42 ± 0,02*
Эозинофильный ряд	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Моноциты	0,80 ± 0,04	0,88 ± 0,04	0,85 ± 0,04
Макрофаги	1,06 ± 0,04	1,04 ± 0,04	1,05 ± 0,04
Моноцитарный ряд	1,86 ± 0,06	1,92 ± 0,07	1,90 ± 0,07
Лимфобласты	0,74 ± 0,03	0,85 ± 0,03*	0,80 ± 0,03*
Лимфоциты	1,04 ± 0,03	0,98 ± 0,04	1,02 ± 0,04
Плазмоциты	0,19 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,17 ± 0,02
Лимфоидный ряд	1,97 ± 0,03	1,98 ± 0,03	1,98 ± 0,03
Мегакариоцитарный ряд	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
Митозы	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,01*	0,02 ± 0,01*
Всего	19,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00*	19,50 ± 0,00*
Примечание – * Различия с контролем достоверны ($p < 0,05$).			

Известно, что разные линии мышей характеризуются различной чувствительностью к ЦФА, их восприимчивость и быстрота компенсаторного ответа на алкилирующее ДНК и белки действие ЦФА различается [183]. Исследователи связывают это явление с различными уровнями ферментов печени, участвующих в метаболизме ЦФА. Так, к высокореагирующим линиям мышей можно отнести SM/J, DBA/2J, а к низкореагирующим – FVB/nJ, BALB/cByJ. Линия C57BL/6 относится к слабореагирующим на действие ЦФА, а мыши линии C3H показывают ответ средней выраженности. Для линии DBA/2J показана максимальная супрессия

нейтрофильного ростка на 3–5-е сутки и последующая рикошетная нейтрофилия к 14-м суткам после однократного введения ЦФА в дозе 200 мг/кг, только к 24-м суткам их число возвращается к физиологической норме, при этом мыши линии BALB/cByJ отвечают падением уровня нейтрофилов на 5-е сутки, уже к 8–9-м суткам отмечается выраженная рикошетная нейтрофилия и возвращение к уровню контроля к 17-м суткам [183]. Из литературных данных также известно, что выраженная лейкопения после однократного введения ЦФА в дозе 100 мг/кг развивается на 3–5-е сутки. Двукратное введение ЦФА продлевает сроки удержания лейкопении в крови до 8 сут [48].

Различные клеточные типы также обладают разной степенью выраженности реакции на ЦФА, разной скоростью восстановления своего количества и функций после его введения. ЦФА в большей степени поражает наиболее активно пролиферирующие типы клеток, при этом другие также поражаются, хотя в меньшей степени. Например, показано, что способность клеток селезёнки мышей, получивших однократную внутрибрюшинную инъекцию ЦФА, отвечать на фитогемагглютинин (поликлональный стимулятор Т- и В-лимфоцитов) восстанавливалась уже через 3 сут после введения, тогда как бластогенная реакция на митоген лаконоса (стимулятор В-клеток) – лишь на 10–14-е сутки [171]. При этом красная пульпа селезёнки и В-зависимые зоны были сильно опустошены, а Т-зависимые области оставались интактными. Введение ЦФА до антигенного стимула длительно подавляет образование антител, но не влияет на предшественники активированных Т-клеток. После же антигенной стимуляции Т-клетки также становятся чувствительными к действию ЦФА. Однократная внутрибрюшинная инъекция ЦФА в дозе 150 мг/кг морским свинкам приводит к снижению содержания Т- и В-клеток на 60–70 % в периферической крови и лимфоузлах. Полное восстановление числа Т-клеток наблюдалось к 8-м суткам, а количество В-клеток оставалось сниженным вплоть до 14 сут после введения ЦФА [184]. При этом известно, что ЦФА значительно сильнее угнетает лимфопоэз в костном мозгу крыс по сравнению с эритропоэзом [125]. Одной из возможных причин высокого тропизма ЦФА к лимфоидным клеткам предпола-

гается более низкий уровень глутатиона в лимфоцитах по сравнению, например, с гранулоцитами, что было обнаружено у мышей линии СВА [106].

Анализ реакции миелокариоцитов мышей различных линий на введение ЦФА указывает на отсутствие однотипного ответа. Можно отметить лишь общее компенсаторное повышение клеточности в ответ на введение цитостатика в исследуемый срок. При этом отмечается преимущественное снижение количества ретикулоцитов, отражающее, по-видимому, введение ЦФА 8 сут назад, деление бластных клеток было нарушено, что отразилось на числе зрелых форм в исследуемое время. При этом отмечается изменение соотношений бластных клеток различной степени зрелости эритроидного ростка. Нейтрофильный росток через 8 сут после введения ЦФА преимущественно отвечает повышением числа более зрелых форм. Таким образом, компенсаторный ответ гранулоцитарного ростка развивается быстрее, чем для эритроидного ряда, восстановление численности идет активнее. Базофильный росток также показывает преимущественно гиперпластический ответ. При этом лимфоциты, которые согласно литературным данным [106] должны быть более подвержены действию ЦФА, чем другие клеточные типы, в настоящем исследовании у мышей различных линий показывают неоднозначный ответ. Доля лимфоцитов среди миелокариоцитов преимущественно снижается, а вот абсолютное количество снижается только у мышей линии С57BL/6.

Принимая во внимание изменения в периферической крови, можно предположить, что лимфоциты мышей линии С57BL/6 и SJL обладают максимальной чувствительностью к цитостатическому действию ЦФА. Среднюю чувствительность показывают лимфоциты мышей линии С57BL/10: в крови только относительная лимфопения, лимфобласты показывают компенсаторный рост. У мышей линии С3Н количество лимфоцитов восстанавливается быстрее всего: нет изменений в периферической крови на фоне активации лимфопоза в костном мозге. В целом наблюдаемые изменения в гематологических показателях периферической крови и количество миелокариоцитов костного мозга указывают на миело- и лимфосупрессивный эффект ЦФА. В то же время клетки – предшественники гранулоцитов менее под-

вержены действию ЦФА, чем эритроидные ядродержащие клетки и клетки – предшественники лимфоцитов, что согласуется с известными данными [168].

При применении пептидов, выделенных из ФГФСЦБ (недельный курс), отмечены менее выраженные изменения в крови по сравнению со второй группой на фоне введения ЦФА, что свидетельствует об иммунопротекторном действии полученных пептидов.

3.2.3 Оценка биологического действия пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, на цитотоксическую активность и неспецифическую резистентность к инфекциям

Проведена оценка влияния пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, на цитотоксичность клеточных линий и первичных культур клеток экспериментальных животных L929, J774.1A, 56, K562, НСТ116 и MCF-7 и неспецифический иммунитет мышей на фоне экспериментальной сальмонеллёзной инфекции.

В ходе исследования было установлено отсутствие цитотоксического действия и нарушения жизнеспособности клеток в культурах L929, J774.1A, HeLaS3, K562 и НСТ116 на фоне воздействия пептидов в концентрации от 0,02 до 10 мг/мл (таблица 17).

Достоверное увеличение жизнеспособности клеток линии L929 на 5,9; 6,3; 6,8; 5,9 и 11,6 % отмечается при концентрациях пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, 0,04; 0,63; 1,25; 2,5 и 5,0 мг/мл в сравнении с отсутствием пептидов в суспензии клеток (контроль). Отмечен выраженный цитотоксический эффект пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, в концентрациях 5 и 10 мг/мл на клетки линии MCF-7, о чем свидетельствует достоверное снижение жизнеспособности опухолевых клеток на 18,5 % и 23,8 % в сравнении с чистой культурой клеток.

Таблица 17 – Доля жизнеспособных клеток после 48-часовой инкубации с пептидами в разных концентрациях ($M \pm m$), %

Концентрация пептидов, мг/мл	Линия клеток					
	L929	J774.1A	HeLaS3	K562	HCT116	MCF-7
0,02	99,3 ± 8,1	111,2 ± 8,8	104,2 ± 4,4	99,8 ± 8,3	112,8 ± 7,1	100,8 ± 2,1
0,04	105,9 ± 1,9*	106,9 ± 2,7	103,4 ± 8,6	103,7 ± 2,3	108,6 ± 8,4	100,1 ± 3,7
0,08	99,2 ± 4,1	103,0 ± 3,6	100,0 ± 11,2	101,8 ± 1,3	104,1 ± 10,1	100,1 ± 5,2
0,16	106,3 ± 9,7	108,6 ± 12,4	100,7 ± 11,7	106,3 ± 4,7	114,0 ± 5,8	100,0 ± 4,3
0,31	102,8 ± 4,8	108,1 ± 13,2	97,1 ± 13,0	107,0 ± 7,5	101,9 ± 10,3	99,8 ± 5,1
0,63	106,3 ± 11,3*	108,9 ± 7,6	92,6 ± 11,3	104,7 ± 2,0	100,6 ± 4,1	99,7 ± 6,8
1,25	106,8 ± 5,2*	107,5 ± 12,6	97,7 ± 11,5	104,9 ± 3,8	109,8 ± 8,0	100,2 ± 7,2
2,5	109,1 ± 5,9*	112,7 ± 12,3	96,4 ± 4,9	104,3 ± 1,7	106,2 ± 5,0	92,3 ± 2,4
5	110,2 ± 11,6*	98,1 ± 13,7	104,3 ± 6,0	105,1 ± 6,6	107,8 ± 4,0	81,5 ± 3,7**
10	99,7 ± 4,4	103,0 ± 16,5	104,4 ± 7,2	103,3 ± 2,7	105,5 ± 4,1	76,2 ± 3,5**

Примечание – Различия в сравнении с отсутствием пептидов в культуре клеток (жизнеспособность 100) достоверны при * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.

Приведенные данные позволяют рекомендовать использовать выделенные пептиды для профилактики опухолевых заболеваний.

Полученные в исследовании данные объясняются наличием в ФГФСЦБ коротких пептидов. Эти пептиды обладают иммуномодулирующими свойствами и могут играть важную роль в восстановлении функций фибробластов кожи при их репликативном старении [85].

Результаты наших исследований согласуются с исследованиями Н. Колчиной и ее коллег [142], установивших, что КП могут связываться со специфической последовательностью двунитевой ДНК фибробластов и регулировать экспрессию генов и синтез белков цитоскелета, пролиферации и метаболизма клетки, что объясняет их высокую биологическую активность. Известно, что биологическая активность коротких пептидов, полученных на основе аминокислотного анализа полипептидного комплекса из органа лимфоидной системы цыплят – тимуса, направлена на активизацию пролиферации и дифференцировки эпителиальных и иммунных клеток, стимуляцию клеточного иммунитета. Пептид КЕ продемонстрировал

иммуномодулирующее, антиканцерогенное, антиоксидантное и геропротективное действие в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [85]. На основании этих данных можно предположить, что короткие пептиды из ФГФСЦБ могут участвовать в регуляции функций фибробластов кожи путём регуляции экспрессии сигнальных молекул в фибробластах кожи при её старении.

В таблице 18 представлено влияние пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, на выживаемость мышей после внутрибрюшинного заражения культурой *S. enteritidis* 92.

Таблица 18 – Влияние пептидов, выделенных из ФГФСЦБ, на выживаемость мышей после внутрибрюшинного заражения культурой *S. enteritidis* 92 ($M \pm m$)

Показатель	Доза заражения <i>S. enteritidis</i> , КОЕ			
	5	50	500	5 000
1-я группа (контроль)				
Количество выживших животных, голов	3	–	–	–
Средний срок гибели, сут	6,2 ± 0,3	4,2 ± 0,1*	–	–
<i>S. enteritidis</i> у погибших мышей, КОЕ/г	12	15	–	–
2-я опытная группа				
Количество выживших животных, голов	19	–	–	–
Средний срок гибели, сут	7,3 ± 0,5*	5,1 ± 0,1*	–	–
<i>S. enteritidis</i> у погибших мышей, КОЕ/г	9	11	–	–
3-я опытная группа				
Количество выживших животных, голов	22	9	7	–
Средний срок гибели, сут	8,2 ± 0,5*	5,4 ± 0,3*	4,9 ± 0,2*	4,5 ± 0,1*
<i>S. enteritidis</i> у погибших мышей, КОЕ/г	8	10	10	11
4-я опытная группа				
Количество выживших животных, голов	23	14	9	–
Средний срок гибели, сут	8,7 ± 0,6*	6,2 ± 0,3*	5,2 ± 0,1*	3,5 ± 0,1**
<i>S. enteritidis</i> у погибших мышей, КОЕ/г	5	5	7	9
Примечание – Различия в сравнении с контрольной группой достоверны при * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.				

В контрольной группе количество выживших животных при введении дозы 5 КОЕ суточной агаровой культурой *Salmonella enteritidis* 92 составляет 3 головы,

в то время как во 2-й, 3-й и 4-й опытных группах – 19; 22 и 23 головы. Следует отметить, что пептиды не оказывали заметного защитного действия при заражении мышей культурой возбудителя сальмонеллёза в дозе 5 000 КОЕ. Так, средний срок гибели животных при заражении дозой 5 000 КОЕ в 3-й и 4-й опытных группах составил 4,0 сут, что сравнимо с исследуемым показателем в контрольной группе (4,2 сут) на фоне введения патогена в дозе 50 КОЕ. В связи с этим эффективную терапевтическую дозу пептидов установить не удалось. Результаты бактериологического анализа биоматериала от павших мышей подтвердили специфичность экспериментальной инфекции. При заражении мышей 2-й, 3-й и 4-й опытных групп в дозе 50 КОЕ количество высеянной *S. enteritidis* у погибших животных составило 11; 10 и 5 КОЕ/г соответственно.

Полученные результаты демонстрируют положительное влияние пептидов на устойчивость животных к сальмонеллёзной инфекции.

Результаты проведённых исследований свидетельствуют, что пептиды, выделенные из ферментативного гидролизата лимфоидной ткани цыплят-бройлеров, не нарушают жизнеспособности клеток млекопитающих и не проявляют цитотоксических свойств при внесении в культуру здоровых клеток, что свидетельствует об их безопасности. Пептиды проявили цитотоксические свойства и в отношении культуры клеток аденокарциномы молочной железы, и в отношении культуры мезенхимальных стволовых клеток. Сравнение показателей цитотоксичности позволяет сделать вывод, что наиболее выраженный цитотоксический эффект проявляется в отношении клеток MCF-7 и заключается в уменьшении количества опухолевых клеток. Это согласуется с исследованиями R. Kumar и соавторов [143], в которых установлено, что вещества иммуномодулирующего действия влияют не только на клетки иммунной системы; их действие может быть направлено либо непосредственно злокачественные клетки, либо опосредованно через незлокачественные клетки, поддерживающие опухолевое образование.

В эксперименте на беспородных мышях пептиды активизировали неспецифический иммунитет в отношении сальмонеллёзной инфекции, что выразилось в увеличении количества выживших и средним сроком гибели животных при заражении

S. enteritidis дозой 5 КОЕ в 6,3–7,7 раза и на 17,8–40,3 % в зависимости от количества пептидов, полученного мышами. Наиболее эффективной является доза пептидов 750 и 3 750 мг/кг массы тела, так как количество выживших животных при введении *S. enteritidis* в дозе 500 КОЕ составило 7 и 9 голов соответственно, а при дозе патогена 150 мг/кг все животные погибли.

Следовательно, пептиды, выделенные из ФГФСЦБ, имеют перспективы использования в качестве действующего начала в составе различных биологически активных добавок к пище или отдельно, в качестве специализированного пищевого продукта иммуномодулирующего действия.

Проведена оценка влияния пептидов на пролиферативную активность лимфоцитов на мышах линии BALb/c. У части экспериментальных животных была индуцирована иммунодепрессия однократным введением препарата «Циклофосфан» за сутки до проведения экспериментов. В качестве митогена для неспецифической активации Т-лимфоцитов использовали конканавалин А (Кона) в конечной концентрации 2 мкг/мл. Результаты исследований представлены на рисунках 26 и 27.

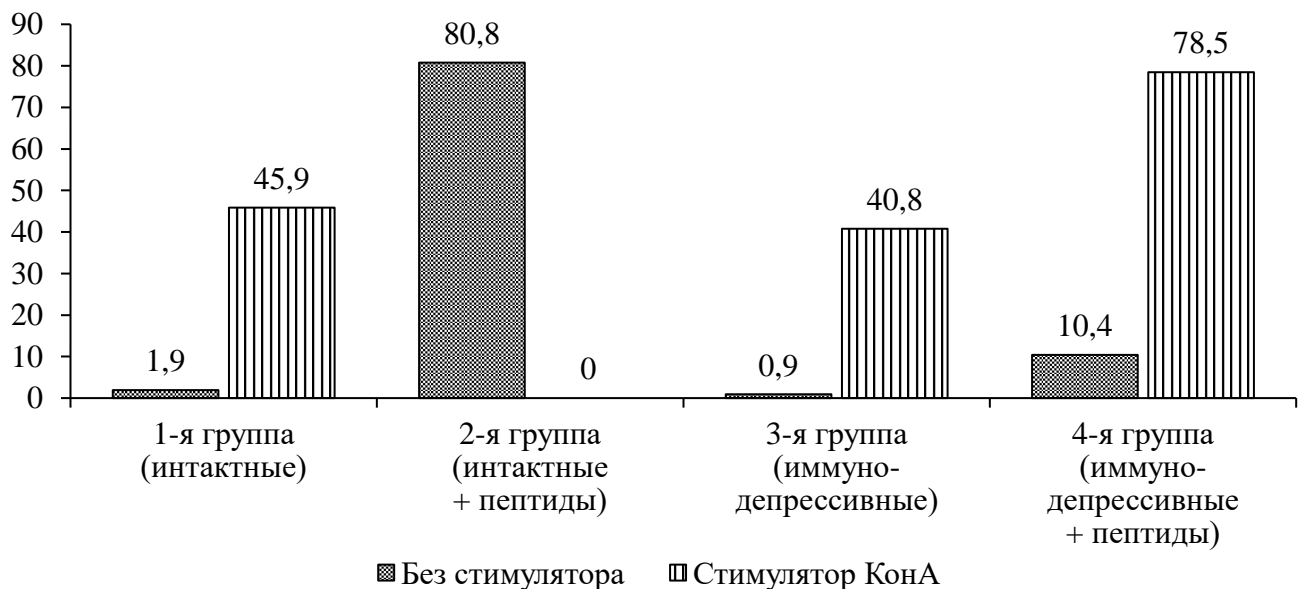


Рисунок 26 – Пролиферативная активность лимфоцитов интактных и иммунодепрессивных мышей линии BALb/c

Отмечено повышение пролиферативной активности лимфоцитов селезёнки по сравнению с интактными животными за счет однократной пролиферации 80,8 % лимфоцитов, а количество индуцированных Кона возросло до 95,1 %, что свидетельствует о стимуляции лимфоцитарного звена иммунной системы мышей.

На рисунке 27 представлены показатели функциональной активности лимфоцитов (процент бласттрансформации (БТ), митотическая активность бластов (МАБ, %) и индекс деления (ИД) интактных и иммунодепрессивных мышей линии BALb/c.

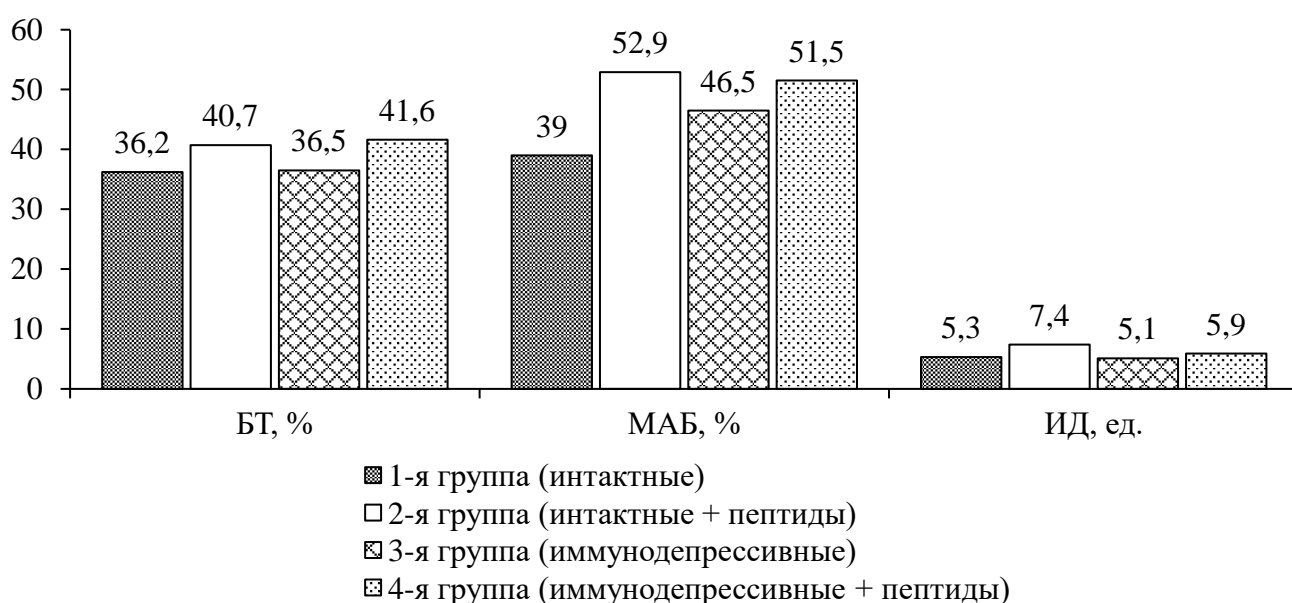


Рисунок 27 – Показатели функциональной активности лимфоцитов интактных и иммунодепрессивных мышей линии BALb/c

Из рисунка 27 следует, что процент БТ и МАБ у интактных мышей на фоне введения пептидов выше во 2-й группе на 4,5 %; 13,9 % и 2,2 %, ИД на 2,1 ед. Аналогичные результаты получены у иммунодепрессивных мышей. Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии пептидов на клеточный иммунитет.

3.3 Практическое применение пептидов в технологии специализированной пищевой продукции

Наиболее целесообразным направлением использования пептидов из фабричной сумки является специализированная продукция, рекомендованная при повышенных физических и эмоциональных нагрузках.

Нами разработан состав сухого белкового напитка для питания спортсменов с использованием продуктов переработки молозива коров и пептидов, выделенных из ФГФСЦБ как совместно, так и по отдельности.

Биологически активные добавки, содержащие сухое молозиво коров и выделенные иммуноглобулины из молозива, используют в качестве обогащающих веществ в технологии пищевой продукции функциональной направленности.

Крупными производителями биологически активных добавок на основе молозива в форме порошка, смесей с сухими пробиотиками, жевательных таблеток, концентрированного жидкого молозива считаются иностранные компании Symbiotis, California Gold Nutrition, Now Foods, Childlife [153].

В России переработкой молозива занимается компания «Биакон». Полученное сухое молозиво вносится в белковые препараты, выработанные из молочной сыворотки, а также реализуется в капсулированном виде в форме БАД «Колострум» (более 20 наименований) [119].

Научно целесообразно применение сухого молозива в рецептуре сухого спортивного напитка.

Химический состав молозива изучен многими учеными, которые отмечают, что молозиво коров от молока отличается высоким содержанием белка, представленного альбуминами и глобулинами, в которых выделяют следующие фракции иммуноглобулинов: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD [103; 154].

Роль иммуноглобулина М в организме человека заключается в фагоцитозе клеток с чужеродным белком при формировании экстренной защиты на гуморальном уровне [159]. IgG усиливает иммунный ответ организма и связывает продукты

метаболизма бактерий. IgA предотвращает проникновение возбудителей болезни через слизистую на локальном уровне [30]. Следует отметить, что содержание указанных биологически активных веществ молозива меняется в зависимости от времени его сбора [121]. Некоторые исследователи утверждают, что оптимальное время сбора – первые часы после отёла, другие – 24–48 ч. В связи с этим нами проведены исследования химического состава молозива для определения концентрации белка, иммуноглобулинов и жира в зависимости от времени сбора молозива с целью обоснования последующего его использования в производстве пищевой продукции с высокой пищевой и биологической ценностью и возможным иммуномодулирующим действием. Важным моментом также является исследование стабильности иммуноглобулинов в желудке человека, так как при их разрушении биологическая роль пищевого продукта будет сводиться к дополнительному источнику белка. В связи с этим нами проведены исследования устойчивости иммуноглобулинов к действию желудочных протеаз.

При визуальной оценке молозиво представляет жидкость коричнево-жёлтого цвета. Изучены физико-химические показатели состава молозива коров, собранного сразу после отёла и через 12 и 24 ч после него (таблица 19).

Таблица 19 – Физико-химические показатели состава молозива ($n = 5$)

Время, прошедшее после отёла, ч	Массовая доля, %		
	белка	жира	зола
0	$23,8 \pm 1,4$	$6,2 \pm 0,2$	$1,33 \pm 0,04$
12	$14,7 \pm 1,2^*$	$5,4 \pm 0,2^*$	$1,12 \pm 0,02^*$
24	$6,9 \pm 0,7^{**}$	$4,7 \pm 0,2^{**}$	$1,02 \pm 0,03^{**}$

Примечание – Достоверно при * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,05$ при сравнении с показателями состава молозива после отёла.

Установлено, что физико-химический состав молозива зависит от времени, прошедшего с момента отёла коровы. Так, сразу после отёла процентное содержание белка, жира и зола составляет 23,8 %; 6,2 % и 1,3 % соответственно, в то время как у молозива, полученного через 12 ч после отёла, – на уровне 14,7 %; 5,4 %

и 1,1 %, соответственно. Аналогичная динамика состава отмечается у молозива, собранного через 24 ч после отёла.

Молозиво коров отличается высоким содержанием иммуноглобулинов (антител), которые участвуют в иммунном ответе при попадании в организм вирусов, бактерий и другого чужеродного белка, способного вызвать заболевание. В молозиве коров выделяют более 80 видов антител к болезням человека, вызываемым бактериями, в частности *E. coli*, *S. typhimurium*, *H. pylori* и др. При этом если животное до отёла имело контакт с носителем вирусной, бактериальной или грибковой инфекции, то в большинстве случаев у коровы образуются антитела к этому заболеванию, и ее молозиво считается гипериммунизированным [121].

Нами проведены исследования содержания иммуноглобулинов в молозиве (таблица 20). Согласно классификации ВОЗ иммуноглобулины подразделяются на пять классов: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD. При этом наиболее доступны для широкого изучения первые три класса. Иммуноглобулины различаются между собой по первичной структуре, физико-химическим свойствам и антиген-специфичности [81].

Таблица 20 – Содержание иммуноглобулинов в молозиве ($n = 5$)

Время, прошедшее после отёла, ч	Содержание, г/л			
	общих иммуноглобулинов	иммуноглобулинов класса G	иммуноглобулинов класса A	иммуноглобулинов класса M
0	89,4 ± 2,3	31,2 ± 2,1	1,3 ± 0,1	10,3 ± 1,2
12	60,3 ± 1,9*	28,3 ± 1,6*	1,1 ± 0,1	5,6 ± 1,2*
24	25,7 ± 1,6**	23,1 ± 1,4**	1,0 ± 0,1*	3,2 ± 1,0**
Примечание – Достоверно при * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,05$ при сравнении с показателями состава молозива после отёла.				

Общая концентрация иммуноглобулинов в молозиве зависит от времени, прошедшего после отёла. Так, количество общих иммуноглобулинов сразу после отёла и через 12 и 24 ч после него составляет 89,4; 60,3 и 25,7 г/л. Аналогичные изменения отмечаются в изменении содержания иммуноглобулинов других исследуемых классов. Например, количество иммуноглобулинов класса M в молозиве через 24 ч после отёла составляет 3,2 г/л, что на 68,9 % ниже, чем сразу после отёла.

В таблице 21 представлена стабильность иммуноглобулинов в молозиве под действием фармакологического препарата «Желудочный сок «Эквин». Из приведённых данных следует, что существенных и достоверных отличий в содержании иммуноглобулинов в молозиве под действием желудочного сока не отмечено, что согласуется с исследованиями W. G. Struff и G. Sprotte [172], которые утверждают, что титр антител молозива в желудочном соке снижается на 1–2 ед. через 30–60 мин и остаётся стабильным в течение 8 ч.

Таблица 21 – Стабильность иммуноглобулинов в молозиве под действием фармакологического препарата «Желудочный сок «Эквин» ($n = 5$)

Показатель	Значение, г/л			
	фон	через 10 мин	через 20 мин	через 30 мин
Общие иммуноглобулины	89,4 ± 2,3	87,6 ± 2,3	87,1 ± 2,2	86,3 ± 2,2
Иммуноглобулины класса G	31,2 ± 2,1	30,6 ± 2,1	30,2 ± 2,1	30,1 ± 2,2
Иммуноглобулины класса A	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,1
Иммуноглобулины класса M	10,3 ± 1,2	10,3 ± 1,2	10,3 ± 1,2	10,1 ± 1,0

Полученные данные объясняются наличием в молозиве глюकोпротеинов и ингибиторов ферментов желудочного сока, которые обеспечивают защиту иммуноглобулинов от ферментативного гидролиза [160].

Из вышеизложенного следует, что для производства сухого белкового напитка для питания спортсменов с высокой биологической ценностью и иммуномодулирующими свойствами лучше использовать молозиво, собранное сразу после отёла. Молозиво может храниться при температуре от 0 °С до 4 °С до 8 сут при соблюдении санитарно-гигиенических требований без существенного изменения показателей пищевой и биологической ценности. При пастеризации молозива до 15 % сывороточных белков денатурируются.

Для сохранения биологических свойств молозива его замораживают при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С. При хранении замороженного молозива в течение более 2 мес. количество общего и сывороточных белков снижается на 2 % и 8 % соответственно [70].

Нами усовершенствована технология получения сухого молозива, отличающаяся тем, что для инактивации протеолитических ферментов молозива использовали апротинин после предварительного высушивания молозива в инфракрасной печи до влажности 10–14 %.

Для переработки рекомендуется использовать молозиво, собранное сразу после отёла. Технология получения сухого молозива следующая (рисунок 28).

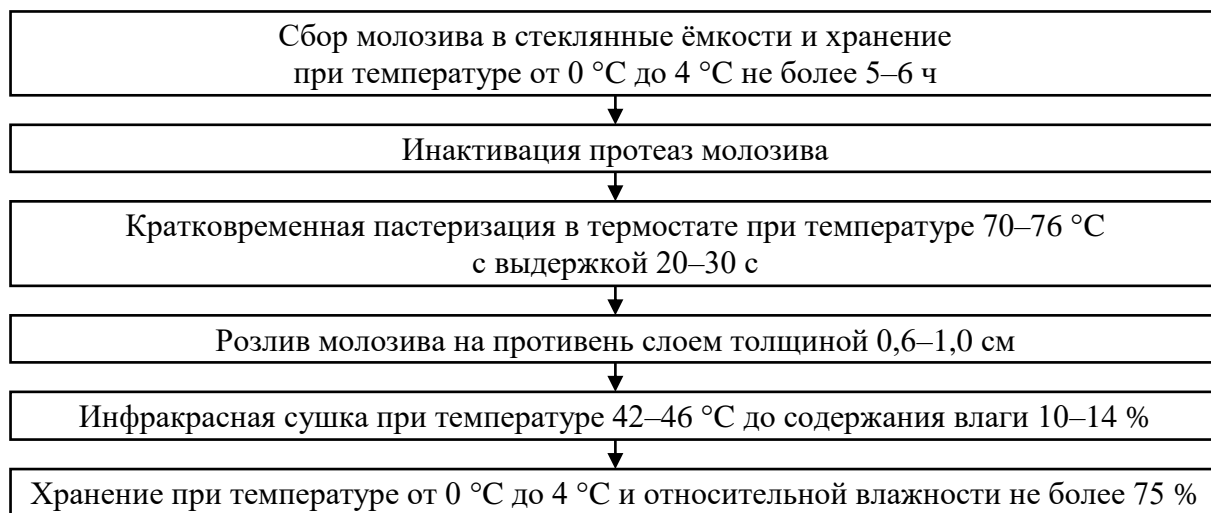


Рисунок 28 – Технологическая схема получения сухого молозива

Целесообразно обосновать предложенные этапы переработки молозива и определить оптимальные технологические режимы.

Для производства сухого молозива рекомендуется использовать сырьё, собранное не более чем через 5–6 ч с момента отёла, так как увеличение времени, прошедшего после отёла до сбора молозива, приводит к снижению общего белка в молозиве и уменьшению гамма-глобулиновой фракции (иммуноглобулинов).

В молозиве содержится значительное количество протеаз и липаз, что может привести к порче готового продукта. Инактивацию протеаз проводили апротинином в количестве 1 см³ (активность 10 000 КИ) на 1 000 см³ молозива. Следует отметить, что использование апротинина позволяет не допустить коагуляции иммуноглобулинов, что сохраняет их нативные иммуномодулирующие свойства. Полученный раствор гомогенизировали при температуре 0–4 °С в течение 10–12 мин.

Следующим технологическим этапом является высушивание молозива. Для подсушивания молозиво равномерного разливали в противни с толщиной слоя до 1 см и термостатировали при температуре 42–46 °С до содержания влаги 16–18 %. Следует отметить, что апротинин теряет свою активность при температуре выше 38–42 °С, следовательно, применение инфракрасной сушки в технологии сухого молозива позволяет инактивировать апротинин.

Оценку качества сухого молозива проводили по содержанию влаги (10–14 %), количеству общих иммуноглобулинов, иммуноглобулинов А, М, G и КМАФАНМ (таблица 22).

Таблица 22 – Показатели качества сухого молозива ($n = 5$)

Показатель	Значение
Общие иммуноглобулины, г/1 000 г	289,5 ± 12,3
Иммуноглобулины класса G, г/1 000 г	96,4 ± 3,6
Иммуноглобулины класса А, г/1 000 г	3,6 ± 0,2
Иммуноглобулины класса М, г/1 000 г	62,7 ± 3,7
Массовая доля влаги, %	3,3 ± 0,4
КМАФАНМ, КОЕ/см ³ (г)	8

Из таблицы 22 следует, что сухое молозиво характеризуется высоким содержанием общих иммуноглобулинов (289,5 г/1 000 г) и всех исследуемых классов. Это свидетельствует, что предложенная технология переработки молозива позволяет концентрировать биологически активные вещества, в частности иммуноглобулины, и обеспечить их сохраняемость.

По показателю КМАФАНМ сухое молозиво соответствует требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

Нами разработана рецептура белкового сухого напитка для питания спортсменов с использованием сухого молозива коров и пептидов, выделенных из ФГФСЦБ. В таблице 23 представлена рецептура белкового сухого напитка для питания спортсменов.

Таблица 23 – Рецептuru сухого белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов (на 100 кг)

Наименование сырья	Содержание, кг
Изолят сывороточного белка	53,9
Фруктоза	35,0
Экстракт гибискуса	6,0
Лимонная кислота (E330)	1,2
Гидрокарбонат натрия E500(ii)	1,1
Пектин яблочный	1
Сухое молозиво	0,8
Цитрат натрия (E331)	0,5
Пептид, выделенный из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров	0,4
Итого	100

В рецептуре разработанного белкового сухого напитка использован изолят сывороточного белка, количество которого нами определено с учётом физиологической потребности в белке взрослого населения (75–114 г в сутки) согласно МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» и норме, регламентируемой ГОСТ 34621-2019 «Напитки белковые, белково-углеводные и углеводно-белковые сухие для питания спортсменов».

Следует отметить, что изолят сывороточного белка является источником пептидов [150; 155; 176; 187], что подтверждает целесообразность его использования в рецептуре сухого белкового напитка для спортсменов.

В качестве функциональных ингредиентов – источников пептидов в технологии продуктов специализированного назначения используется изоляты сывороточного белка: BioZate® (Davisco, США), BioPure GMP™ (Davisco, США), Hilmar™ 8390 (Hilmar Ingredients, США), DPP-IV NOP-47™ (Glanbia Nutritionals, США) и др.

Одним из рецептурных компонентов сухого белкового напитка является сухое молозиво, количество которого в сухом напитке обусловлено рекомендациями зарубежных компаний Symbiotis, California Gold Nutrition, Now Foods, Childlife

[153], производящих биологически активные добавки с содержанием 400 мг молозива в одной капсуле (суточная рекомендуемая доза для взрослого человека в целях активации иммунной системы).

Количество пептидов в рецептуре белкового сухого спортивного напитка рассчитано согласно рекомендациям П. Д. Шабанова [93] по использованию пептидов для профилактики и лечения иммунодефицитных состояний и нейропротекции (потенциальное уменьшение повреждения нервной ткани).

В рецептуру напитка в качестве ароматизатора и красителя введён экстракт цветков гибискуса *Hibiscus*. Эффективность его применения в технологии пищевой продукции, в том числе в напитках, подтверждена в работах [78; 115].

Количество других пищевых добавок в рецептуре сухого белкового напитка для питания спортсменов определено согласно рекомендациям производителей.

Смешивание рецептурных компонентов проводили на универсальном смесителе на кафедре пищевой инженерии УрГЭУ при постоянном помешивании с частотой вращения лопастей 2 400–2 500 об/мин и температуре 2–4 °С. В ёмкость смесителя засыпали рецептурные компоненты в следующей последовательности: изолят сывороточного белка, молозиво, фруктоза, экстракт гибискуса, лимонная кислота, гидрокарбонат натрия, пектин яблочный, цитрат натрия и пептиды.

Проведены исследования показателей качества и пищевой ценности разработанного белкового сухого напитка для питания спортсменов (таблица 24).

Таблица 24 – Показатели качества и пищевой сухого белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов

Показатель	Характеристика, фактическое содержание	Норма по ГОСТ 34621-2019
Внешний вид	Мелкий дисперсный порошок	–
Цвет	Красный	–
Вкус и запах	С ароматом гибискуса	–
Влага, %	6,4	Не более 7,5
Общий белок в сухом веществе, %	72,3	От 50 до 80 включ.
Бурсальные пептиды (BP11) с молекулярной массой 27–18 кДа, %	На менее 0,4	–

В таблице 25 представлены микробиологические показатели сухого белкового напитка для питания спортсменов.

Таблица 25 – Микробиологические показатели сухого белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов

Показатель	Норма по ТР ТС 21/2011	Фактическое содержание
Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы	Не допускаются в 25 см ³	Не выделены
<i>E. coli</i> , г	Не допускаются	Не выделены
Сульфитредуцирующие клостридии, г	Не более 1	Не выделены
Дрожжи, КОЕ/г	Не более 50	Не выделены
Плесени, КОЕ/г	Не более 10	Не выделены
КМАФАнМ, КОЕ/г	Не более $5 \cdot 10^4$	9

Все исследуемые микробиологические показатели сухого белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов соответствуют требованиям ТР ТС 21/2011 «О безопасности пищевой продукции».

Все исследуемые показатели качества (органолептические, физико-химические, пищевая ценность) и безопасности (микробиологические и токсикологические) соответствовали требованиям ТР ТС 021/2011 и ГОСТ 34621-2019 в течение 14 мес. хранения при температуре (25 ± 2) °С и относительной влажности 75–85 %.

На основе проведённых исследований установлены регламентируемые показатели качества, срок и режим хранения сухого белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов (таблица 26).

При употреблении взрослым человеком рекомендуемой порции (50 г) в сутки обеспечивается не менее 50 % суточной нормы потребления белка.

Перед употреблением сухого напитка рекомендуется его развести питьевой водой в количестве 300 см³.

Рекомендуемый срок и режим хранения сухого белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов: 12 мес. при температуре (25 ± 2) °С и относительной влажности 75–85 %.

Таблица 26 – Регламентируемые показатели качества сухого белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов

Показатель	Характеристика, норма
Внешний вид	Мелкий дисперсный порошок
Цвет	Красный
Вкус и запах	Фруктовый с ароматом гибискуса
Влага, %	Не более 6,4
Массовая доля общего белка, %	50–80
Доля бурсальных пептидов (BP11) с молекулярной массой 27–18 кДа, %	Не менее 0,4

Следует отметить, что при обсуждении влияния использования пептидов в составе в качестве иммуномодулятора, применяемого перорально, нельзя не учитывать возможные механизмы доставки активных веществ к нужным клеткам организма. Среда желудочно-кишечного тракта является агрессивной для многих активных веществ и приводит к их разрушению и потере функциональности. Поскольку большинство из известных в настоящее время биологически активных пептидов высвобождаются и активируются при пищеварении в желудочно-кишечном тракте и не проникают из пищеварительного тракта в кровь, их действие, вероятно, опосредовано через рецепторы кишечного эпителия или осуществляется непосредственно в просвете кишечника. Следовательно, целесообразно рассмотреть возможность разработки технологии препарата для внутривенного применения.

Заключение

Пептиды с различной степенью активности в отношении иммунной системы получают из разных тканей животных и птиц. Согласно сложившимся научным представлениям, практически все системы организма животных и птиц могут служить источником иммуноактивных пептидов. Тканевые иммунорегуляторные пептиды на основе ферментативных гидролизатов применяют при иммунодефицитах, хронических воспалительных процессах и т. д. Вместе с тем остаётся много нерешённых вопросов в области выделения и оценки биологической эффективности пептидов, полученных из органов иммунной системы птиц. В результате работы выделены пептиды из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки – органа лимфоидной ткани цыплят-бройлеров, проведена оценка биологической эффективности и разработан продукт специализированного назначения с их использованием.

По результатам работы сделаны следующие выводы.

1. Установлены требования к органолептическим, физико-химическим показателям и химическому составу фабрициевой сумки цыплят-бройлеров как сырья для получения бурсальных пептидов.

2. Разработана технология выделения пептидов из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, включающая отбор сырья (фабрициева сумка цыплят-бройлеров в возрасте 35 дней), промывку проточной водой в течение 10 мин при температуре воды 16–18 °С; куттерование сырья в течение 3 мин при частоте вращения ножей 2 400 об/мин; гомогенизацию при скорости вращения насадки 600 об/мин при температуре 4 °С в течение 60 мин и ферментативный гидролиз с последующей гель-фильтрацией, распылительную сушку и упаковку. На основе максимального содержания (82 % от общего количества) бурсальных пептидов (BP5 и BP11) с молекулярной массой 27–18 кДа и свободных аминокислот лейцина, изолейцина, глутамина и тирозина определены рациональные технологические режимы гидролиза фабрициевой сумки: концентрация фермента папаина 0,15 % от субстрата, время гидролиза 6 ч, гидромодуль 1:3, температура 36 °С.

3. Проведена оценка биологической активности пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров.

3.1. На основе макро- и микроскопирования внутренних органов нелинейных белых мышей на 1-е и 7-е сутки после окончания месячного внутрижелудочного введения пептидов в дозе 15 000 мг/кг установлено, что пептиды не обладают острой и подострой токсичностью.

3.2. Изучение иммуномодулирующего действия пептидов на мышцах линий C57BL/6, C57BL/10, C3H, SJL с экспериментальным синдромом иммунодефицита свидетельствует, что у мышей исследуемых линий через 8 сут после введения ЦФА отмечается повышение количества лейкоцитов в основном за счёт средних клеток (моноцитов, эозинофилов, базофилов) и гранулоцитов, снижение содержания эритроцитов и гемоглобина. Доказано, что введение пептидов внутрь лабораторным мышам уменьшает отклонения исследуемых гематологических показателей от физиологической нормы, что свидетельствует об иммунотропном действии пептидов.

3.3. Проведена оценка влияния пептидов на цитотоксичность клеточных линий и первичных культур клеток экспериментальных животных L929, J774.1A, HeLaS3, K562, HCT116 и MCF-7. Установлено, что пептиды не нарушают жизнеспособность здоровых клеток млекопитающих и не проявляют цитотоксических свойств, что свидетельствует об их безопасности. Пептиды проявили цитотоксические свойства в отношении клеток MCF-7. Полученные данные позволяют предположить, что пептиды влияют не только на клетки иммунной системы, их действие может быть направлено непосредственно на злокачественные клетки либо опосредованно через незлокачественные клетки, влияющие на опухолевое образование.

3.4. При исследовании влияния пептидов на неспецифический иммунитет мышей на фоне экспериментальной сальмонеллёзной инфекции установлено, что пептиды активизировали неспецифический иммунитет в отношении сальмонеллёзной инфекции, что выражалось в увеличении количества выживших и среднего срока гибели животных, заражённых *S. enteritidis* (доза 5 КОЕ), в 6,3–7,7 раза и на 17,8–40,3 % соответственно. Наиболее эффективной является доза пептидов 750 и 3 750 мг/кг массы тела.

3.5. При оценке влияния пептидов на пролиферативную активность лимфоцитов на мышцах линии BALb/c установлено, что они стимулируют активность перитонеальных нейтрофилов и селезёночных лимфоцитов как у здоровых, так и у иммунодепрессивных мышей. У них также отмечено повышение пролиферативной активности лимфоцитов селезёнки по сравнению с интактными животными за счёт однократной пролиферации лимфоцитов до 80,8 %, а количество индуцированных КонаА возросло до 84,74 %, что свидетельствует о стимуляции лимфоцитарного звена иммунной системы мышей.

4. Дана оценка качества и свойств молозива коров и научно обосновано его использование в составе сухого белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов в качестве источника иммуноглобулинов. Установлено, что химический состав молозива коров зависит от времени, прошедшего с момента отёла. Процентное содержание белка, жира и золы в молозиве сразу после отёла составляет 23,8 %; 6,2 % и 1,3 % соответственно; в молозиве, полученном через 12 ч после отёла, – 14,7 %; 5,4 % и 1,1 % соответственно. Количество общих иммуноглобулинов по всем исследуемым классам сразу после отёла, через 12 и 24 ч после него составляет 89,4; 60,3 и 25,7 г/л соответственно. Разработана технология получения сухого молозива. Доказано, что при использовании разработанной технологии сухого молозива в нем отмечается высокое содержание общих иммуноглобулинов (289,5 г/1000 г) и иммуноглобулинов классов G, A, M.

5. Разработан состав белкового сухого напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов с использованием пептидов, выделенных из фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, сухого молозива коров и изолята сывороточного белка.

5.1. Исследованы показатели качества и пищевой ценности разработанного белкового напитка «Спортивное долголетие» для питания спортсменов с использованием сухого молозива коров и биологически активных пептидов, выделенных из ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров; установлены регламентируемые показатели качества, срок и режим хранения (12 мес. при температуре $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ и относительной влажности 75–85 %).

Список литературы

1. Арион, В. Я. Тактивин и его биологическая активность / В. Я. Арион // Иммунобиология гормонов тимуса / под ред. Ю. А. Гриневича, В. Ф. Чеботарева. – Киев : Здоров'я, 1989. – С. 103–125.
2. Арион, В. Я. Разделение и физико-химическая характеристика некоторых компонентов Т-активина (фракция АТФ) / В. Я. Арион // Коррекция нарушений иммунитета в клинике и эксперимент : сб. науч. тр. / под ред. Ю. М. Лопухина, Р. В. Петрова. – Москва : МОЛГМИ, 1985. – С. 12–16.
3. Асафов, В. А. Некоторые аспекты регулирования микробиологического состава молозива / В. А. Асафов, Н. Л. Танькова, Е. Л. Исакова [и др.]. – DOI 10.24411/9999-008A-2019-10015 // Пищевая индустрия. – 2019. – № 4 (42). – С. 20–25.
4. Атюнина, Ю. В. Потребительские свойства молозива и перспективы его использования в производстве специализированных продуктов / Ю. В. Атюнина, В. В. Машков, З. В. Волокитина // Вестник науки. – 2019. – Т. 1, № 4 (13). – С. 4–8.
5. Ашмарин, И. П. Перспективы практического применения и некоторые фундаментальные исследования малых регуляторных пептидов / И. П. Ашмарин // Вопросы медицинской химии. – 1984. – Т. 30, № 3. – С. 2–7.
6. Багрянцева, О. В. Обоснование необходимости разработки мероприятий по управлению рисками, связанными с использованием пищевой продукции, производимой при помощи микробного синтеза / О. В. Багрянцева. – DOI 10.24411/0042-8833-2020-10017 // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89, № 2. – С. 64–76.
7. Бакаева, Л. Н. Динамика качества молозива первого удоя у коров молочных пород в зависимости от сезона отёла / Л. Н. Бакаева, А. С. Карамаева, С. В. Карамаев, И. А. Киргизова // Молочное и мясное скотоводство. – 2018. – № 7. – С. 41–44.
8. Банницына, Т. Е. Дрожжи в современной биотехнологии / Т. Е. Банницына, А. В. Канарский, А. В. Щербаков, В. К. Чеботарь // Вестник Международной академии холода. – 2016. – № 1. – С. 24–29.

9. Белик, С. Н. Продукты микробного синтеза в решении проблемы белкового дефицита / С. Н. Белик, Е. В. Моргуль, В. В. Крючкова, З. Е. Аветисян // Восточно-Европейский научный журнал. – 2016. – Т. 7, № 1. – С. 122–129.

10. Белоусова, О. В. Биологически активные добавки как перспективное направление развития фармацевтического рынка / О. В. Белоусова, Е. А. Белоусов, А. О. Иващенко. – DOI 10.18413/2313-8955-2016-2-4-89-94 // Научный результат. Медицина и фармация. – 2016. – Т. 2, № 4. – С. 89–94.

11. Березовский, Н. Д. Активность креатинфосфокиназы сыворотки крови как тест для прогнозирования стрессчувствительности у свиней / Н. Д. Березовский, А. М. Поливода // Сельскохозяйственная биология. – 1983. – № 8. – С. 98–100.

12. Богатырёв, С. А. Технология хранения и транспортирования товаров / С. А. Богатырёв, И. Ю. Михайлова. – Москва : Дашков и К°, 2009. – 142 с. – ISBN 978-5-394-00186-4.

13. Борисенко, Е. Г. Производство дрожжевых продуктов широкого профиля / Е. Г. Борисенко, О. Б. Мадзу, Е. К. Пироговская [и др.]. – DOI 10.17586/2310-1164-2019-12-1-3-9 // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. – 2019. – № 1. – С. 3–9.

14. Борисов, Н. Иммуномодуляторы. Укрепляем здоровье животных и птицы / Н. Борисов // Эффективное животноводство. – 2021. – № 2 (168). – С. 42–45.

15. Бояринева, И. В. Пробиотики в функциональном питании / И. В. Бояринева. – DOI 10.38161/2618-9526-2020-3-03 // Вестник Хабаровского государственного университета экономики и права. – 2020. – № 3 (104). – С. 160–163.

16. Булгакова, В. А. Иммуномодуляция как стратегия профилактики и лечения респираторных инфекций / В. А. Булгакова, И. И. Балаболкин, А. С. Игнатова // Consilium medicum. – 2016. – Т. 18, № 11. – С. 96–101.

17. Воробьев, А. А. Новые принципы и методы создания иммунобиологических препаратов. / А. А. Воробьев, Н. В. Медуницын // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 1999. – № 10. – С. 16–17.

18. Воронин, Е. С. Иммуноterapia острых респираторных заболеваний (ОРЗ) телят / Е. С. Воронин, Д. А. Девришов // Проблемы лейкоза и инфекционных

заболеваний сельскохозяйственных животных : межвуз. сб. науч. тр. – Москва : Моск. вет. акад. им. К. И. Скрябина, 1988. – С. 102–103.

19. Воронов, Д. В. Микробильный состав кишечника у телят после потребления пробиотической кормовой добавки «Про-биоген» / Д. В. Воронов, Ю. Н. Бобер, Е. Г. Смолей // Современные технологии сельскохозяйственного производства : сб. науч. ст. по материалам XX Междунар. науч.-практ. конф. – Гродно : Гродненский ГАУ, 2017. – С. 22–23.

20. Вторичные иммунодефицитные состояния – междисциплинарная проблема. Дискуссия продолжается // Эффективная фармакотерапия. – 2016. – № 6. – С. 78–90.

21. Гаглоева, А. Р. Анализ бактериостатических свойств синтезированных гетероциклов / А. Р. Гаглоева, В. С. Гаппоева, И. А. Дреева, А. А. Тотиков // Актуальные проблемы химии, биологии и биотехнологии : материалы XI Всерос. науч. конф. (Владикавказ, 11–13 мая 2017 г.). – Владикавказ : СОГУ им. К. Л. Хетагурова, 2017. – С. 211–214.

22. Галактионов, В. Г. Как работает иммунная система / В. Г. Галактионов // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 2. – С. 2–9.

23. Говорун, В. М. Протеомика и пептидомика в фундаментальных и прикладных медицинских исследованиях (обзорная статья) / В. М. Говорун, В. Т. Иванов // Биоорганическая химия. – 2011. – Т. 37, № 2. – С. 199–215.

24. Голидонова, К. А. Разработка комплексного ферментного препарата на основе штамма *Candida parapsilosis* M10-10b / К. А. Голидонова, Л. А. Иванова // Биотехнология и продукты биоорганического синтеза : сб. материалов нац. науч.-практ. конф. (Москва, 24 апреля 2018 г.). – Москва : МГУПП, 2018. – С. 168–172.

25. Горелик, А. С. Качество молозива и молока при применении препарата «Альбит-Био» / А. С. Горелик, О. В. Горелик // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2016. – № 12. – С. 12–16.

26. Гумеров, А. Б. Влияние качества молозива и молока на сохранность и рост телят при применении ферментных препаратов / А. Б. Гумеров, А. С. Горелик,

И. В. Кныш // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2018. – № 51. – С. 163–169.

27. Девришов, Д. А. Разработка и изучение свойств иммуномодуляторов и биологических препаратов для профилактики и лечения болезни молодняка сельскохозяйственных животных : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 16.00.03, 03.00.23 / Девришов Давудай Абдулсемедович. – Москва, 2000. – 53 с.

28. Дейгин, В. И. Разработка оригинальных пептидных лекарственных препаратов: ситуация в России и в мире / В. И. Дейгин // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова. – 2010. – Т. 6, № 1. – С. 63–64.

29. Донник, И. М. Качество молозива и сохранность телят в условиях использования природных энтеросорбентов / И. М. Донник, О. П. Неверова, О. В. Горелик // Аграрный вестник Урала. – 2016. – № 7 (149). – С. 43–52.

30. Дранник, Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – Москва : Мед. информ. агентство, 2003. – 603 с. – ISBN 5-89481-137-6.

31. Захарова, Л. А. Стимулирующее действие гуморального фактора костного мозга на продукцию антител в системе *in vivo* / Л. А. Захарова, Р. В. Петров, Ю. О. Сергеев // Доклады АН СССР. – 1978. – Т. 243, № 5. – С. 1327–1329.

32. Зень, В. М. Гематологические показатели телят с низким уровнем естественной резистентности организма / В. М. Зень, А. П. Свиридова, А. П. Харитонов // Современные технологии сельскохозяйственного производства : материалы XX Междунар. науч.-практ. конф. – Гродно : Гродненский ГАУ, 2017. – С. 43–45.

33. Зень, В. М. Профилактическая эффективность использования антибактериального препарата при выращивании телят / В. М. Зень, С. Л. Поплавская, А. П. Харитонов, Ю. В. Санжаровская // Современные технологии сельскохозяйственного производства : материалы XX Междунар. науч.-практ. конф. – Гродно : Гродненский ГАУ, 2017. – С. 40–42.

34. Иммуноterapia: руководство для врачей / под ред. Р. М. Хаитова [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 768 с. – ISBN 978-5-9704-5372-8.

35. Исламмагомедова, Э. А. Содержание минеральных веществ в дрожжах рода *Saccharomyces* в зависимости от условий культивирования / Э. А. Исламмагомедова, Э. А. Халилова, Р. З. Гасанов, А. А. Абакарова // Вестник Дагестанского научного центра РАН. – 2017. – № 65. – С. 24–31.

36. Карамеева, А. С. Качество молозива коров разных генеалогических линий голштинской породы / А. С. Карамеева, Л. Н. Бакаева, С. В. Карамеев, Г. В. Лапин // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – Т. 6, № 1. – С. 40–46.

37. Кашинова, Э. Б. Оптимизация технологических режимов выделения биологически активных веществ из сырья животного происхождения / Э. Б. Кашинова, Е. А. Котенкова, Е. А. Ертикеева, А. Г. Ахремко // Актуальная биотехнология. – 2016. – № 1 (16). – С. 17–22.

38. Клиническая иммунология / С. Я. Доценко, Д. Г. Рекалов, Т. Г. Шеховцева [и др.]. – Запорожье : Запорожский гос. мед. ун-т, 2019. – 169 с.

39. Кокиева, Г. Е. Процесс аэрирования в аэраторе колонкового типа / Г. Е. Кокиева, А. И. Павлова, И. Н. Аммосов [и др.] // Научно-технический вестник Поволжья. – 2019. – № 3. – С. 25–27.

40. Кривоपालов, А. А. Роль современных иммуномодуляторов в лечении и профилактике заболеваний верхних дыхательных путей и уха / А. А. Кривоपालов, К. Ю. Щербань. – DOI 10.21518/2079-701X-2017-16-68-72 // Медицинский совет. – 2017. – № 16. – С. 68–72.

41. Крылова, Н. В. Противовирусная активность препаратов с различным механизмом действия при экспериментальном клещевом энцефалите / Н. В. Крылова, Г. Н. Леонова. – DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-3-139-144 // Вопросы вирусологии. – 2016. – Т. 61, № 3. – С. 139–144.

42. Кузник, Б. И. Влияние полипептидов из вилочковой железы, костного мозга и сумки Фабрициуса на иммуногенез и гемостаз у неонатально тимэктомированных и эмбрионально бурсэктомированных цыплят / Б. И. Кузник, А. В. Степанов, Н. Н. Цыбиков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1987. – Т. 103, № 4. – С. 449–451.

43. Курбатова, Е. И. Исследование и разработка гибридного способа производства глубокоочищенных жидких и сухих гидролизатов дрожжей / Е. И. Курбатова, В. Л. Кудряшов, В. Е. Давыдкина [и др.] // Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов : сб. тр. – Москва : ВНИИПБТ, 2016. – С. 180–189.

44. Лавренова, В. Иммунобиологические препараты для продуктивных животных / В. Лавренова // Ценовик. – 2017. – № 12. – С. 125–130.

45. Линдер, Д. П. Структурные доказательства иммунорегуляторных свойств Т-активина / Д. П. Линдер, В. Я. Арион, И. А. Поберий [и др.] // Иммунология. – 1985. – № 5. – С. 51–54.

46. Лозовская, Д. С. Динамика реологических и физико-химических показателей колоострума крупного рогатого скота в течение начального периода лактации / Д. С. Лозовская, О. Ю. Филатова, О. В. Дымар // Современные технологии сельскохозяйственного производства : сб. науч. ст. по материалам XXI Междунар. науч.-практ. конф. – Гродно : ГГАУ, 2018. – С. 49–52.

47. Лозовская, Д. С. Изучение особенностей процесса гомогенизации молока / Д. С. Лозовская, О. В. Дымар // Современные технологии сельскохозяйственного производства : сб. науч. ст. по материалам XXII Междунар. науч.-практ. конф. – Гродно : ГГАУ, 2019. – С. 75–77.

48. Лосева, Л. Ф. Некоторые особенности фармакодинамики циклофосфана у экспериментальных животных / Л. Ф. Лосева, Ф. В. Доненко, О. В. Лебединская [и др.] // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 4–5. – С. 323.

49. Ляшенко, В. В. Характеристика импортного скота разной селекции в условиях лесостепного Поволжья / В. В. Ляшенко, Ю. А. Светова, И. В. Каешова, Т. А. Гусева // Нива Поволжья. – 2016. – № 4. – С. 43–49.

50. Малашко, В. В. Иммунная система пищеварительного тракта животных / В. В. Малашко, А. О. Хусейн Али, В. Т. Бозер [и др.] // Современные технологии сельскохозяйственного производства : материалы XX Междунар. науч.-практ. конф. – Гродно : Гродненский ГАУ, 2017. – С. 62–64.

51. Малинина, В. В. Сравнительная характеристика иммуномодуляторов / В. В. Малинина, В. Х. Хавинсон // Иммунология. – 1999. – № 2. – С. 23–25.

52. Мальцев, Д. В. Современная иммунотерапия: классификация иммунотерапевтических агентов, механизм действия, показания к применению, режимы дозирования, побочные эффекты / Д. В. Мальцев // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2020. – № 3–4 (124–125). – С. 7–15.

53. Марьянович, А. Т. Гематоэнцефалический барьер и эволюция пептидной регуляции физиологических функций / А. Т. Марьянович // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2016. – Т. 52, № 4. – С. 292–298.

54. Мингалеева, З. Ш. Применение антиоксидантов в технологии и формировании потребительских свойств обогащенной мучной продукции : монография / З. Ш. Мингалеева, О. В. Старовойтова, С. В. Борисова, О. А. Решетник. – Казань : Изд-во КНИТУ, 2014. – 168 с. – ISBN 978-5-7882-1599-0.

55. Михайлова, А. А. Индивидуальные миелопептиды лекарства «нового поколения», используемые для иммунореабилитации / А. А. Михайлова // Международный журнал по иммунореабилитации. – 1996. – № 2. – С. 27–31.

56. Михайлова, А. А. Миелопептиды новая группа регуляторных пептидов / А. А. Михайлова // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 14–17.

57. Морозов, В. Г. Выделение, биологическая активность и механизм действия регуляторных пептидов тимуса и костного мозга. Медиаторы иммунного ответа в эксперименте и клинике / В. Г. Морозов, В. Х. Хавинсон // Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума. – Москва, 1983. – С. 106–107.

58. Новикова, И. А. Современные аспекты клинического применения иммуномодуляторов / И. А. Новикова // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2016. – № 1 (19). – С. 59–67.

59. Обулахова, М. Н. Особенности кормления телят в первые месяцы жизни: применение молозива / М. Н. Обулахова // Академический вестник Якутской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 4 (21). – С. 54–57.

60. Общая и клиническая иммунология / О. В. Скороходкина, Р. Ф. Хакимова, А. А. Васильева [и др.]. – Казань : КГМУ, 2018. – 191 с.

61. Панкина, И. А. Исследование влияния ультразвуковой обработки водных суспензий на физиологическую активность хлебопекарных дрожжей / И. А. Панкина, Д. А. Черникова // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2019. – Т. 8, № 3 (47). – С. 152–157.

62. Пинегин, Б. В. Современные принципы создания иммуотропных лекарственных препаратов / Б. В. Пинегин, Р. М. Хаитов. – DOI 10.24411/0206-4952-2019-16008 // Иммунология. – 2019. – Т. 40, № 6. – С. 57–62.

63. Поляков, В. Ф. Динамика протеолитической активности молозива и молока коров / В. Ф. Поляков, О. М. Ипатова, И. И. Усачев // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 5 (69). – С. 32–37.

64. Поляков, В. Ф. Ингибиторы протеаз молозива млекопитающих, их функция в процессах пищеварения и защите организма животных / В. Ф. Поляков, О. М. Ипатова, И. И. Усачев // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 5 (69). – С. 38–41.

65. Практикум по технологии хлеба, кондитерских и макаронных изделий: технология хлебобулочных изделий / Л. П. Пащенко, Т. В. Санина, Л. И. Столярова [и др.] ; под ред. Л. П. Пащенко. – Москва : КолосС, 2007. – 215 с. – ISBN 5-9532-0331-4.

66. Пушкарев, И. А. Физико-химические показатели молозива коров после применения биогенного препарата / И. А. Пушкарев, Т. В. Куренинова, Т. Л. Силивинова [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2019. – № 8 (178). – С. 117–122.

67. Ралкова, В. С. Возможность использования изолятов дрожжей, выделенных из биологических объектов, для утилизации углеводов, увеличения биомассы – источника кормового белка / В. С. Ралкова, О. А. Артемьева, Е. Н. Колодина, Д. А. Никанова // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2016. – № 11-1. – С. 66–70.

68. Римарева, Л. В. Исследование внутриклеточного ионного состава биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Л. В. Римарева, М. Б. Оверченко,

Н. И. Игнатова [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. – 2017. – № 1. – С. 51–54.

69. Римарева, Л. В. Специализированный пищевой продукт на основе ферментолизата биомассы дрожжей / Л. В. Римарева, Е. М. Серба, М. Б. Оверченко [и др.]. – DOI 10.24411/0042-8833-2018-10341 // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87, № S5. – С. 231–232.

70. Самбуров, Н. В. Повышение биологических свойств молозива / Н. В. Самбуров // Вестник Курганской сельскохозяйственной академии. – 2008. – № 2. – С. 27–29.

71. Сафина, Д. Р. Способы повышения бродильной активности хлебопекарных дрожжей / Д. Р. Сафина, М. Н. Халимов, Ф. Р. Турсунов, О. А. Решетник // Международный журнал прикладных наук и технологий Integral. – 2019. – № 1. – URL: <https://e-integral.ru/rubriki/biologicheskie-nauki/integral-1-2019-6> (дата обращения: 06.04.2020).

72. Сепиашвили, Р. И. Иммунореабилитология: истоки, будни и перспективы. От иммунотерапии к персонализированной таргетной иммунореабилитации / Р. И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2016. – Т. 17, № 3. – С. 165–175.

73. Серба, Е. М. Биотехнологические методы получения пищевых добавок на основе биоконверсии микробной биомассы / Е. М. Серба, В. А. Поляков, Л. В. Римарева [и др.] // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85, № S2. – С. 149.

74. Серба, Е. М. Исследование процесса ферментативного гидролиза биомассы дрожжей для создания пищевых ингредиентов с заданным фракционным составом белковых веществ / Е. М. Серба, Л. В. Римарева, Е. И. Курбатова [и др.] // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 2. – С. 76–83.

75. Серба, Е. М. Микробная биомасса – перспективный источник биологически полноценного белка и полисахаридов / Е. М. Серба, Л. В. Римарева, М. Б. Оверченко [и др.]. – DOI 10.24411/0042-8833-2018-10346 // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87, № S5. – С. 235–236.

76. Серба, Е. М. Перспективные расы хлебопекарных дрожжей для получения пищевых ингредиентов, обогащенных селеном и хромом / Е. М. Серба, Е. Н. Соко-

лова, Л. В. Римарева [и др.]. – DOI 10.24411/0042-8833-2020-10078 // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89, № 6. – С. 48–57.

77. Серба, Е. М. Получение пептидно-аминокислотных ингредиентов на основе грибной биомассы *Aspergillus oryzae* / Е. М. Серба, П. Ю. Таджибов, Л. В. Римарева [и др.]. – DOI 10.31857/S0026364820010079 // Микология и фитопатология. – 2020. – Т. 54, № 1. – С. 23–32.

78. Смирнов, Е. В. Ингредиенты без Е-индекса для окрашивания пищевой продукции / Е. В. Смирнов // Пищевая промышленность. – 2018. – № 1. – С. 35–39.

79. Старовойтова, О. В. Активация дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в технологии приготовления хлеба / О. В. Старовойтова, А. А. Садриева, З. Ш. Мингалеева, О. А. Решетник // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17, № 1. – С. 235–237.

80. Темербаева, М. В. Теоретические и практические аспекты создания комбинированных пищевых продуктов специального назначения / М. В. Темербаева, М. Б. Ребезов. – Павлодар : Кереку, 2017. – 141 с. – ISBN 978-601-238-717-9.

81. Токаев, Э. С. Состав и клиническое использование коровьего молозива / Э. С. Токаев, И. С. Краснова, Т. В. Коробейникова // Вопросы питания. – 2012. – Т. 81, № 3. – С. 35–40.

82. Трофимов, А. Ф. Иммунокомпетентные свойства и состав молозива коров в зависимости от способа их содержания в сухостойный период / А. Ф. Трофимов, А. А. Музыка, Л. Н. Шейграцова [и др.] // Современные технологии сельскохозяйственного производства : материалы XX Междунар. науч.-практ. конф. – Гродно : Гродненский ГАУ, 2017. – С. 246–249.

83. Федулова, Л. В. Исследование *in vitro* биологически активных веществ животного происхождения / Л. В. Федулова, Э. Б. Кашинова // Все о мясе. – 2016. – № 4. – С. 30–33.

84. Фомкина, И. Н. Разработка технологии производства продуктов с использованием молочной сыворотки / И. Н. Фомкина // Современные технологии сельскохозяйственного производства : сб. науч. ст. по материалам XXI Междунар. науч.-практ. конф. – Гродно : Гродненский ГАУ, 2018. – С. 121–122.

85. Фридман, Н. В. Сравнительное влияние пептидов KE и AED на функциональную активность фибробластов кожи человека при их репликативном старении / Н. В. Фридман, Н. С. Линькова, Е. О. Кожевникова [и др.]. – DOI 10.47056/1814-3490-2020-3-197-201 // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2020. – № 3. – С. 197–201.
86. Хавинсон, В. Х. Пептидные геропротекторы – эпигенетические регуляторы физиологических функций организма / В. Х. Хавинсон, Б. И. Кузник, Г. А. Рыжак. – Санкт-Петербург : Изд-во РГПУ им. А. И. Герцена, 2014. – 271 с. – ISBN 978-5-5-8064-2035-10.
87. Хаитов, Р. М. Иммунология / Р. М. Хаитов. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 496 с. – ISBN 978-5-9704-4655-3.
88. Хаитов, Р. М. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2003. – Т. 24, № 4. – С. 196.
89. Хаитов, Р. М. Иммуномодуляторы: мифы и реальность / Р. М. Хаитов. – DOI 10.33029/0206-4952-2020-41-2-101-106 // Иммунология. – 2020. – Т. 41, № 2. – С. 101–106.
90. Харитонов, Д. В. Разработка концепции создания синбиотиков и синбиотических молочных продуктов / Д. В. Харитонов, И. В. Харитонова, А. Ю. Просеков // Техника и технология пищевых производств. – 2013. – № 4 (31). – С. 91–94.
91. Хромова, Л. Г. Проблема повышения белковости молочного скота / Л. Г. Хромова, Н. В. Байлова, Е. А. Пилюгина // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2015. – № 4-2 (47). – С. 56–61.
92. Шабанов, П. Д. Психофармакологический профиль ноотропоподобных пептидов / П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев, В. А. Корнилов [и др.] // Психофармакология и биологическая наркология. – 2009. – Т. 9, № 1–2. – С. 2517–2523.
93. Шабанов, П. Д. Фармакология лекарственных препаратов пептидной структуры / П. Д. Шабанов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 8, № 3–4. – С. 2399–2425.

94. Шейбак, В. М. Аминокислоты и иммунная система / В. М. Шейбак, М. В. Горецкая. – Москва : Пальмир, 2010. – 351 с. – ISBN 978-5-93811-012-0.

95. Шиндин, С. М. Возрастная инволюция зубной железы сельскохозяйственных животных : дис. ... канд. биол. наук / С. М. Шиндин. – Саратов, 1946. – 210 с.

96. Шульга, Н. Н. Законы формирования иммуноглобулиновой составляющей молозива / Н. Н. Шульга, И. С. Шульга, Л. П. Плавшак, С. С. Дикунина // Национальная ассоциация ученых. – 2016. – № 3 (19). – С. 59–62.

97. Эгамбердиева, Л. Н. Иммуноактивные препараты животного происхождения (обзор литературы) / Л. Н. Эгамбердиева // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2017. – № 1. – С. 44–51.

98. Agyei, D. Bioprocess challenges to the isolation and purification of bioactive peptides / D. Agyei, C. Ongkudon, C. Y. Wei [et al.]. – DOI 10.1016/j.fbp.2016.02.003 // Food and bioproducts processing. – 2016. – Vol. 98. – P. 244–256.

99. Ahmed, T. Recent insights into structure–function relationships of antimicrobial peptides / T. Ahmed, R. Hammami. – DOI 10.1111/jfbc.12546 // Journal of food biochemistry. – 2019. – Vol. 43, iss. 1. – Art. e12546.

100. Astley, S. Nutrition and health / S. Astley, F. Paul. – DOI 10.1016/B978-0-08-100596-5.03425-9 // Reference Module in Food Science. – Amsterdam : Elsevier, 2016. – P. 1–6.

101. Baumann, I. Microbial production of short chain fatty acids from lignocellulosic biomass: current processes and market / I. Baumann, P. Westermann. – DOI 10.1155/2016/8469357 // BioMed Research International. – 2016. – Vol. 2016. – Article ID 8469357.

102. Boga, S. Sequence-specific DNA recognition with designed peptides / S. Boga, D. Bouzada, D. Garcia Pena [et al.]. – DOI 10.1002/ejoc.201700988 // European journal of organic chemistry. – 2018. – Vol. 2018, iss. 3. – P. 249–261.

103. Brinkworth, G. D. Effect of bovine colostrum on anaerobic exercise performance and plasma insulin-like growth factor / G. D. Brinkworth, J. D. Buckley. – DOI

10.1080/0264041031000101935 // Journal of sports sciences. – 2003. – Vol. 21, iss. 7. – P. 577–588.

104. Brown, L. Lactic acid bacteria as cell factories for the generation of bioactive peptides / L. Brown, E. V. Pingitore, F. Mozzi [et al.]. – DOI 10.2174/0929866524666161123111333 // Protein and peptide letters. – 2017. – Vol. 24, iss. 2. – P. 146–155.

105. Caputi, S. Effect of short peptides on neuronal differentiation of stem cells / S. Caputi, O. Trubiani, B. Sinjari [et al.]. – DOI 10.1177/2058738419828613 // International journal of immunopathology and pharmacology. – 2019. – Vol. 33. – P. 1–12.

106. Carmichael, J. Glutathione and glutathione transferase levels in mouse granulocytes following cyclophosphamide administration / J. Carmichael, D. J. Adams, J. Ansell, C. R. Wolf // Cancer research. – 1986. – Vol. 46, iss. 2. – P. 735–739.

107. Ceafalan, L. C. Heterocellular molecular contacts in the mammalian stem cell niche / L. C. Ceafalan, A.-M. Enciuab, T. E. Fertig [et al.]. – DOI 10.1016/j.ejcb.2018.07.001 // European journal of cell biology. – 2018. – Vol. 97, iss. 6. – P. 442–461.

108. Celinska, E. *Pichia cactophila* and *Kluyveromyces lactis* are highly efficient microbial cell factories of natural amino acid-derived aroma compounds / E. Celinska, R. Bonikowski, W. Białas [et al.]. – DOI 10.3390/molecules23010097 // Molecules. – 2018. – Vol. 23. – Article ID 23010097.

109. Chahardoli, M. Recombinant expression of LFchimera antimicrobial peptide in a plant-based expression system and its antimicrobial activity against clinical and phytopathogenic bacteria / M. Chahardoli, A. Fazeli, A. Niazi, M. Ghabooli. – DOI 10.1080/13102818.2018.1451780 // Biotechnology and biotechnological equipment. – 2018. – Vol. 32, iss. 3. – P. 714–723.

110. Chai, K. F. Bioactive peptides from food fermentation: a comprehensive review of their sources, bioactivities, applications, and future development / K. F. Chai, A. Y. H. Voo, W. N. Chen. – DOI 10.1111/1541-4337.12651 // Comprehensive reviews in food science and food safety. – 2020. – Vol. 19. – P. 3825–3885.

111. Chakrabarti, S. Food-derived bioactive peptides in human health: challenges and opportunities / S. Chakrabarti, S. Guha, K. Majumder. – DOI 10.3390/nu10111738 // *Nutrients*. – 2018. – Vol. 10, iss. 11. – Art. 1738.

112. Chalamaiah, M. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: a review / M. Chalamaiah, W. Yu, J. Wu. – DOI 10.1016/j.foodchem.2017.10.087 // *Food chemistry*. – 2018. – Vol. 245. – P. 205–222.

113. Comsa J. The thymic hormones / J. Comsa. – DOI 10.1159/000178237 // *Hormones*. – 1971. – Vol. 2, iss. 4. – P. 137–140.

114. Conneely, M. Effect of feeding colostrum at different volumes and subsequent number of transition milk feeds on the serum immunoglobulin G concentration and health status of dairy calves / M. Conneely, D. P. Berry, R. Sayers [et al.]. – DOI 10.3168/jds.2013-7494 // *Journal of dairy science*. – 2014. – Vol. 97, iss. 11. – P. 6991–7000.

115. Da-Costa-Rocha, I. A phytochemical and pharmacological review / I. Da-Costa-Rocha, B. Bonnlaender, H. Sievers [et al.]. – DOI 10.1016/j.foodchem.2014.05.002 // *Food chemistry*. – 2014. – Vol. 165. – P. 424–443.

116. Daliri, E. B.-M. Bioactive peptides / E. B.-M. Daliri, D. H. Oh, B. H. Lee. – DOI 10.3390/foods6050032 // *Foods*. – 2017. – Vol. 6, iss. 5. – Art. 32.

117. De Brito, R. Peptide vaccines for leishmaniasis / R. De Brito, J. Cardoso, L. Reis [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2018.01043 // *Frontiers in immunology*. – 2018. – Vol. 9. – Art. 1043.

118. De, L. The suppressive effects of Bursopentine (BP5) on oxidative stress and NF- κ B activation in lipopolysaccharide-activated murine peritoneal macrophages / L. De, M. Xue, Z. Geng, P. Chen. – DOI 10.1159/000337581 // *Cellular physiology and biochemistry*. – 2012. – Vol. 9, iss. 1–2. – P. 9–18.

119. Dzik, S. Properties of bovine colostrum and the possibilities of use / S. Dzik, B. Miciński, I. Aitzhanova [et al.]. – DOI 10.1016/j.poamed.2017.03.004 // *Polish annals of medicine*. – 2017. – Vol. 24, iss. 2. – P. 295–299.

120. Effros, R. B. The effect of thymosin- α 1 immunity to influenza in aged mice / R. B. Effros, A. Casillas, R. L. Walford // *Aging-immunology and infectious disease*. – 1988. – Vol. 1. – P. 31–40.

121. Elfstrand, L. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing / L. Elfstrand, H. Lindmark-Månsson, M. Paulsson [et al.]. – DOI 10.1016/S0958-6946(02)00089-4 // International dairy journal. – 2002. – Vol. 12, iss. 11. – P. 879–887.

122. Ermakova, A. Study of complex additive use possibility to improve yeast and wheat bread quality / A. Ermakova, E. Zinurova, R. Levashov [et al.] // Indo American journal of pharmaceutical sciences. – 2018. – Vol. 5, iss. 9. – P. 9275–9281.

123. Feng, X. Immunomodulatory roles and functional analysis of pre-B lymphocyte DT40 cells with the bursal-derived BSP-II treatment / X. Feng, B. Zhou, R. Cao [et al.]. – DOI 10.1016/j.peptides.2012.04.015 // Peptides. – 2012. – Vol. 36, iss. 2. – P. 292–298.

124. Feng, X. The potential mechanism of Bursal-derived BPP-II on the antibody production and avian pre-B cell / X. Feng, R. Cao, B. Zhou [et al.]. – DOI 10.1016/j.vaccine.2012.09.022 // Vaccine. – 2013. – Vol. 31, iss. 11. – P. 1535–1539.

125. Floersheim, G. L. A comparative study of the effects of anti-tumour and immunosuppressive drugs on antibody-forming and erythropoietic cells / G. L. Floersheim // Clinical and experimental immunology. – 1970. – Vol. 6, iss. 6. – P. 861–870.

126. Furuta, T. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from phycobiliproteins of dulse, *Palmaria palmata* / T. Furuta, Y. Miyabe, H. Yasui [et al.]. – DOI 10.3390/md14020032 // Marine drugs. – 2016. – Vol. 14, iss. 2. – Art. 32.

127. Galdiero, S. Peptide-based drugs and drug delivery systems / S. Galdiero, P. Gomes. – DOI 10.3390/molecules22122185 // Molecules. – 2017. – Vol. 22, iss. 12. – P. 2185–2191.

128. Gmoser, R. Filamentous ascomycetes fungi as a source of natural pigments / R. Gmoser, J. Ferreira, P. Lennartsson, M. Taherzadeh. – DOI 10.1186/s40694-017-0033-2 // Fungal biology and biotechnology. – 2017. – Vol. 4, iss. 4. – P. 25.

129. Golovach, T. N. Evaluation of antimutagenic and antifungal properties, parameters of acute toxicity and sensitizing activity of enzymatic whey protein hydrolysate / T. N. Golovach, N. V. Dudchik, E. G. Veremeenko [et al.]. – DOI 10.21179/2308-4057-2016-2-38-47 // Foods and Raw Materials. – 2016. – Vol. 4, iss. 2. – P. 38–47.

130. Görgüç, A. Bioactive peptides derived from plant origin by-products: biological activities and techno-functional utilizations in food developments – a review / A. Görgüç, E. Gençdağ, F. Yılmaz. – DOI 10.1016/j.foodres.2020.109504 // Food research international. – 2020. – Vol. 136. – Art. 109504.

131. Górska-Warsewicz, H. Food products as sources of protein and amino acids – the case of Poland / H. Górska-Warsewicz, W. Laskowski, O. Kulykovets [et al.]. – DOI 10.3390/nu10121977 // Nutrients. – 2018. – Vol. 10, iss. 12. – Art. 1977.

132. Halavach, T. M. Enzymatic hydrolysis of milk proteins as a basis of specialized food products biotechnology / T. M. Halavach, V. P. Kurchenko, A. I. Albulov // Nauka i studia. – 2016. – Vol. 3. – P. 1196–1207.

133. Halim, N. R. A. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: a comprehensive review / N. R. A. Halim, H. M. Yusof, N. M. Sarbon. – DOI 10.1016/j.tifs.2016.02.007 // Trends in food science and technology. – 2016. – Vol. 51. – P. 24–33.

134. Harold, E. P. Alpha-amylase conjugated biogenic silver nanoparticles as innovative strategy against biofilm-forming multidrug resistant bacteria / H. E. Abeleda, A. Javier, A. Q. Murillo, R. Baculi. – DOI 10.1016/j.bcab.2020.101784 // Biocatalysis and agricultural biotechnology. – 2020. – Vol. 29. – Art. 101784.

135. Hayes, M. Food proteins and bioactive peptides: new and novel sources, characterisation strategies and applications / M. Hayes. – DOI 10.3390/foods7030038 // Foods. – 2018. – Vol. 7, iss. 3. – Art. 38.

136. Jach, M. E. Nutritional yeast biomass: characterization and application / M. E. Jach, A. Serefko. – DOI 10.1016/B978-0-12-811440-7.00009-0 // Diet, microbiome and health / ed. by A. M. Holban, A. M. Grumezescu. – New York : Academic Press, 2018. – P. 237–270.

137. Joshi, I. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme (ACE-I) inhibition and antioxidant peptide from by-catch shrimp (*Oratosquilla woodmani*) waste / I. Joshi, K. Janagaraj, P. M. Noorani, R. Abdul Nazeer. – DOI 10.1016/j.bcab.2020.101770 // Biocatalysis and agricultural biotechnology. – 2020. – Vol. 29. – Art. 101770.

138. Kallscheuer, N. Engineered microorganisms for the production of food additives approved by the European Union – a systematic analysis / N. Kallscheuer. – DOI 10.3389/fmicb.2018.01746 // *Frontiers in microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – Article ID 01746.
139. Karamaev, S. V. Quality of colostrum milk of large cattle dairy breeds / S. V. Karamaev, L. N. Bakaeva, Kh. Z. Valitov [et al.] // *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. – 2018. – Vol. 9, no. 5. – P. 1429–1439.
140. Kerksick, C. International society of sports nutrition position stand: nutrient timing / C. Kerksick, S. Arent, B. Schoenfeld [et al.]. – DOI 10.1186/s12970-017-0189-4 // *Journal of the International society of sports nutrition*. – 2017. – Vol. 14. – Art. 33.
141. Khavinson, V. Kh. Peptides and ageing / V. Kh. Khavinson // *Neuroendocrinology Letters*. – 2002. – Vol. 23, suppl. 3. – Art. 7.
142. Kolchina, N. Systematic search for structural motifs of peptide binding to double-stranded DNA / N. Kolchina, V. Khavinson, N. Linkova [et al.]. – DOI 10.1093/nar/gkz850 // *Nucleic Acids Res.* – 2019. – Vol. 47, iss. 20. – P. 10553–10563.
143. Kumar, R. Triterpenoids from *Cassia fistula* L. regulate p53 & ERK2 genes to induce apoptosis in HT-29 colon cancer cells / R. Kumar, S. Jeyapriyadharshini, A. Roy [et al.]. – DOI 10.1016/j.bcab.2019.101286 // *Biocatalysis and agricultural biotechnology*. – 2019. – Vol. 21. – Art. 101286.
144. Lee, A. C. A comprehensive review on current advances in peptide drug development and design / A. C. Lee, J. L. Harris, K. K. Khanna, J. H. Hong. – DOI 10.3390/ijms20102383 // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, iss. 10. – Art. E2383.
145. Li, J. Bursopentin (BP5) induces G1 phase cell cycle arrest and endoplasmic reticulum stress/mitochondria-mediated caspase-dependent apoptosis in human colon cancer HCT116 cells / J. Li, T. Li, Y. Ma [et al.]. – DOI 10.1186/s12935-019-0849-3 // *Cancer cell international*. – 2019. – Vol. 19. – Art. 130.
146. Li, M. Engineering yeast for high-level production of stilbenoid antioxidants / M. Li, K. Schneider, M. Kristensen [et al.]. – DOI 10.1038/srep36827 // *Scientific reports*. – 2016. – Vol. 6. – Art. 36827.

147. Liu, R. A review of antioxidant peptides derived from meat muscle and by-products / R. Liu, L. Xing, Q. Fu [et al.]. – DOI 10.3390/antiox5030032 // *Antioxidants*. – 2016. – Vol. 5, iss. 3. – Art. 32.

148. Liu, X. Isolation, modulatory functions on murine B cell development and antigen-specific immune responses of BP11, a novel peptide from the chicken bursa of Fabricius / X. Liu, X. Feng, B. Zhou [et al.]. – DOI 10.1016/j.peptides.2012.03.003 // *Peptides*. – 2012. – Vol. 35, iss. 1. – P. 107–113.

149. Maky, M. A. Generation and characterization of novel bioactive peptides from fish and beef hydrolysates / M. A. Maky, T. Zendo. – DOI 10.3390/app112110452 // *Applied Sciences*. – 2021. – Vol. 11, no. 21. – Art. 10452.

150. Mann, B. Bioactive peptides from whey proteins / B. Mann, S. Athira, R. Sharma [et al.]. – DOI 10.1016/B978-0-12-812124-5.00015-1 // *Whey proteins: from milk to medicine* / ed. by H. Deeth, N. Bansal. – New York : Academic Press, 2019. – P. 519–547.

151. Marqus, S. Evaluation of the use of therapeutic peptides for cancer treatment / S. Marqus, E. Pirogova, T. Piva. – DOI 10.1186/s12929-017-0328-x // *Journal of biomedical science*. – 2017. – Vol. 24, iss. 1. – Art. 21.

152. McCann, K. B. Isolation and characterization of antibacterial peptides derived from the f(164–207) region of bovine α_{S2} -casein / K. B. McCann, B. J. Shiell, W. P. Michalski [et al.]. – DOI 10.1016/j.idairyj.2004.06.008 // *International dairy journal*. – 2005. – Vol. 15, iss. 2. – P. 133–143.

153. McGrath, B. A. Composition and properties of bovine colostrum: a review / B. A. McGrath, P. Fox, P. McSweeney, A. Kelly. – DOI 10.1007/s13594-015-0258-x // *Dairy science and technology*. – 2015. – Vol. 96, iss. 2. – P. 133–158.

154. Mehra, R. Milk immunoglobulins for health promotion / R. Mehra, P. Marnila, H. Korhonen. – DOI 10.1016/j.idairyj.2006.06.003 // *International dairy journal*. – 2006. – Vol. 16, iss. 11. – P. 1262–1271.

155. Minj, S. Developing a dairy-based health formulation by combining the bioactive properties of whey protein hydrolysates and probiotic organisms / S. Minj, S. Anand // *Journal of Dairy Science*. – 2019. – Vol. 102, suppl. 1. – P. 82.

156. Nwachukwu, I. D. Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides / I. D. Nwachukwu, R. Aluko. – DOI 10.1111/jfbc.12761 // Journal of food biochemistry. – 2019. – Vol. 43. – Art. e12761.

157. Owji, H. A comprehensive review of signal peptides: structure, roles, and applications / H. Owji, N. Nezafat, M. Negahdaripour [et al.]. – DOI 10.1016/j.ejcb.2018.06.003 // European journal of cell biology. – 2018. – Vol. 97, iss. 6. – P. 422–441.

158. Peebo, K. Application of continuous culture methods to recombinant protein production in microorganisms / K. Peebo, P. Neubauer. – DOI 10.3390/microorganisms6030056 // Microorganisms. – 2018. – Vol. 6, iss. 3. – Art. 56.

159. Pellegrino, L. Nutritional quality of milk proteins / L. Pellegrino, F. Masotti, S. Cattaneo [et al.]. – DOI 10.1007/978-1-4614-4714-6_16 // Advanced dairy chemistry / ed. by P. McSweeney, P. Fox. – Boston : Springer, 2013. – P. 515–538.

160. Poddar, U. Etiological spectrum of esophageal varices due to portal hypertension in Indian children: is it different from the West? / U. Poddar, B. R. Thapa, K. L. Rao, K. Singh. – DOI 10.1111/j.1440-1746.2007.05102.x // Journal of gastroenterology and hepatology. – 2005. – Vol. 9, iss. 7. – P. 992–1005.

161. Przybylski, R. Production of an antimicrobial peptide derived from slaughterhouse byproduct and its potential application on meat as preservative / R. Przybylski, L. Firdaous, G. Châtaigné [et al.]. – DOI 10.1016/j.foodchem.2016.05.074 // Food chemistry. – 2016. – Vol. 211. – P. 306–313.

162. Qin, T. Bursopentin (BP5) protects dendritic cells from lipopolysaccharide-induced oxidative stress for immunosuppression / T. Qin, Y. Yin, Q. Yu, Q. Yang. – DOI 10.1371/journal.pone.0117477 // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, iss. 2. – Art. e0117477.

163. Raja, K. Anti-proliferative and apoptotic effects of by-product (skin extract) from marine catfish *Tachysurus dussumier* / K. Raja, M. L. Catherene, L. Bose [et al.]. – DOI 10.1016/j.bcab.2020.101816 // Biocatalysis and agricultural biotechnology. – 2021. – Vol. 29. – Art. 101816.

164. Rastogi, N. K. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods / N. K. Rastogi, K. S. M. S. Raghavarao, V. M. Balasubramaniam [et al.]. – DOI

10.1080/10408390600626420 // Critical reviews in food science and nutrition. – 2007. – Vol. 47, iss. 1. – P. 69–112.

165. Revuelta, J. Microbial biotechnology for the synthesis of (pro) vitamins, bio-pigments and antioxidants: challenges and opportunities / J. Revuelta, R. Buey, R. Ledesma-Amaro, E. Vandamme. – DOI 10.1111/1751-7915.12379 // Microbial biotechnology. – 2016. – Vol. 9, iss. 5. – P. 564–567.

166. Samtiya, M. Potential health benefits of plant food-derived bioactive components: an overview / M. Samtiya, R. Aluko, T. Dhewa, J. M. Moreno-Rojas. – DOI 10.3390/foods10040839 // Foods. – 2021. – Vol. 10, iss. 4. – Art. 839.

167. Schrimpf, A. Hinge-type dimerization of proteins by a tetracysteine peptide of high pairing specificity / A. Schrimpf, F. Hempel, A. Li [et al.]. – DOI 10.1021/acs.biochem.8b00475 // Biochemistry. – 2018. – Vol. 57, iss. 26. – P. 3658–3664.

168. Sefc, L. Response of hematopoiesis to cyclophosphamide follows highly specific patterns in bone marrow and spleen / L. Sefc, O. Psenák, V. Sýkora [et al.]. – DOI 10.1089/152581603321210136 // Journal of hematotherapy and stem cell research. – 2003. – Vol. 12, iss. 1. – P. 47–61.

169. Sen, T. Microbial pigments in the food industry – challenges and the way forward / T. Sen, C. J. Barrow, S. K. Deshmukh. – DOI 10.3389/fnut.2019.00007 // Frontiers in nutrition. – 2019. – Vol. 6. – Art. 00007.

170. Sinjari, B. Short peptides protect oral stem cells from ageing / B. Sinjari, F. Diomedea, V. Khavinson [et al.]. – DOI 10.1007/s12015-019-09921-3 // Stem cell reviews and reports. – 2020. – Vol. 16. – P. 159–166.

171. Stockman, G. D. Differential effects of cyclophosphamide on the B and T cell compartments of adult mice / G. D. Stockman, L. R. Heim, M. A. South, J. J. Trentin // Journal of immunology. – 1973. – Vol. 110, iss. 1. – P. 277–282.

172. Struff, W. G. Effect of age on pharmacokinetics and pharmacodynamics in man / W. G. Struff, G. Sprotte // International journal of clinical pharmacology and therapeutics. – 2007. – Vol. 45, iss. 4. – P. 193–202.

173. Sun, X. Considering food matrix and gastrointestinal effects in enhancing bioactive peptide absorption and bioavailability / X. Sun, C. Acquah, R. Aluko, C. Uden-

igwe. – DOI 10.1016/j.jff.2019.103680 // Journal of functional foods. – 2020. – Vol. 64. – Art. 103680.

174. Sun, X. Food derived anti-adhesive components against bacterial adhesion: Current progresses and future perspectives / X. Sun, J. Wu. – DOI 10.1016/j.tifs.2017.09.002 // Trends in food science and technology. – 2017. – Vol. 69, pt. A. – P. 148–156.

175. Thakur, K. Lactic acid bacteria as a cell factory for riboflavin production / K. Thakur, S. K. Tomar, S. De. – DOI 10.1111/1751-7915.12335 // Microbial biotechnology. – 2016. – Vol. 9, iss. 4. – P. 441–451.

176. Théolier, J. Isolation and identification of antimicrobial peptides derived by peptic cleavage of whey protein isolate / J. Théolier, R. Hammami, P. Labelle [et al.]. – DOI 10.1016/j.jff.2013.01.014 // Journal of functional foods. – 2013. – Vol. 5, iss. 2. – P. 706–714.

177. Toldrá, F. Generation of bioactive peptides during food processing / F. Toldrá, M. Reig, M.-C. Aristoy, L. Mora. – DOI 10.1016/j.foodchem.2017.06.119 // Food chemistry. – 2018. – Vol. 267. – P. 395–404.

178. Udenigwe, C. Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food protein hydrolysates / C. Udenigwe, R. Aluko. – DOI 10.3390/ijms12053148 // International journal of molecular sciences. – 2011. – Vol. 12, iss. 5. – P. 3148–3161.

179. Udenigwe, C. Food matrix interaction and bioavailability of bioactive peptides: two faces of the same coin? / C. Udenigwe, V. Fogliano. – DOI 10.1016/j.jff.2017.05.029 // Journal of functional foods. – 2017. – Vol. 35. – P. 9–12.

180. Udenigwe, C. Food protein-derived bioactive peptides: production, processing, and potential health benefits / C. Udenigwe, R. Aluko. – DOI 10.1111/j.1750-3841.2011.02455.x // Journal of food science. – 2012. – Vol. 77, iss. 1. – P. R11–R24.

181. Vanyushin, B. F. Short biologically active peptides as epigenetic modulators of gene activity / B. F. Vanyushin, V. K. Khavinson. – DOI 10.1007/978-3-319-27186-6_5 // Epigenetics – a different way of looking at genetics / ed. by W. Doerfler, P. Böhm. – Cham : Springer, 2016. – P. 69–90.

182. Vitorino, L. Technological microbiology: development and applications / L. Vitorino, L. Bessa. – DOI 10.3389/fmicb.2017.00827 // *Frontiers in microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – Art. 00827.

183. Watters, J. A mouse-based strategy for cyclophosphamide pharmacogenomic discovery / J. Watters, E. Kloss, D. Link [et al.]. – DOI 10.1152/jappphysiol.00214.2003 // *Journal of applied physiology*. – 2003. – Vol. 95, iss. 4. – P. 1352–1360.

184. Winkelstein, A. Effect of immunosuppressive drugs on T and B lymphocytes in guinea pigs / A. Winkelstein // *Blood*. – 1977. – Vol. 50, iss. 1. – P. 81–91.

185. Xu, Q. Bioavailability of bioactive peptides derived from food proteins across the intestinal epithelial membrane: a review / Q. Xu, H. Hong, J. Wu, X. Yan. – DOI 10.1016/j.tifs.2019.02.050 // *Trends in food science and technology*. – 2019. – Vol. 86. – P. 399–411.

186. Xu, Z. Recent advances in the biotechnological production of microbial poly(ϵ -L-lysine) and understanding of its biosynthetic mechanism / Z. Xu, X. Feng, J. Liang. – DOI 10.1007/s00253-016-7677-3 // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2016. – Vol. 100. – P. 6619–6630.

187. Yadav, J. S. S. Cheese whey: a potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides / J. S. S. Yadav, S. Yan, S. Pilli [et al.]. – DOI 10.1016/j.biotechadv.2015.07.002 // *Biotechnology advances*. – 2015. – Vol. 33, iss. 6, pt. 1. – P. 756–774.

188. Yin, Y. Bursopentin (BP5) from chicken bursa of fabricius attenuates the immune function of dendritic cells / Y. Yin, T. Qin, Q. Yu. – DOI 10.1007/s00726-014-1735-x // *Amino acids*. – 2014. – Vol. 46. – P. 1763–1774.

Приложение А
(обязательное)

Документы о внедрении результатов исследования



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Уральский государственный экономический университет»
(УрГЭУ)

СПРАВКА

24.03.2022

№ 1/2403

г. Екатеринбург

О внедрении результатов диссертационного исследования Леонтьевой С.А. на тему «Совершенствование технологии получения бурсальных пептидов с оценкой биологической активности и использование в составе специализированной пищевой продукции» в учебный процесс ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»

Настоящая справка дана Леонтьевой Светлане Александровне в том, что основные научно-методические положения, содержащиеся в диссертационном исследовании «Совершенствование технологии получения бурсальных пептидов с оценкой биологической активности и использование в составе специализированной пищевой продукции», представленном на соискание ученой степени кандидата технических наук по научной специальности 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ, нашли применение в учебном процессе ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет» при подготовке бакалавров в рамках основной образовательной программы 19.03.01 направления подготовки «Биотехнология» (профиль «Пищевая биотехнология»), по дисциплинам «Пищевые и биологически активные добавки» и «Пищевая биотехнология».

Проректор по учебно-методической
работе и качеству образования

Д.А. Карх

**Приложение Б
(обязательное)**

Технические условия 1544240-018-02069214-2021

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«НАЦИОНАЛЬНАЯ ВОДНАЯ КОМПАНИЯ «НИАГАРА»


Ф.7.1-01-05
УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО «НВК «Ниагара»
О.А. Толмачев
2022 г.



Технические условия
1544240-018-02069214-2021
«Напиток белковый сухой для питания спортсменов»

Дата введения: 21.01.2022 г.

Разработано:
Инженер кафедры пищевой инженерии
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
экономический университет»
С.А. Леонтьева



Приложение В (обязательное)

Протоколы лабораторных испытаний



УРАЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ЭКОНОМИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
УРГЭУ-СНХ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский экономический университет»
юридический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
фактический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45

УФК по Свердловской области (УрГЭУ л/с 20626Х67930)
ИНН/КПП 6661003675/667101001
БИК 046577001 в Уральском ГУ Банка России г. Екатеринбург
р/сч 40501810100002000002

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ

№ 656-09 _ - 01.02.2021

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
ЕДИННОГО ЛАБОРАТОРНОГО КОМПЛЕКСА УРГЭУ**

Заказчик	Леонтьева С.А.
Основание	Заявка по теме НИР №
Объект	Фабрищева сумка цыплят бройлеров
Условия проведения испытаний	Лабораторные условия НИЛ
Вид материала	Лимфоэпителиальный орган
Место отбора пробы	Лабораторные условия НИЛ, соответствующие нормативным требованиям
Дата отбора (получения образцов)	01.02.2021
Метод отбора образцов	ГОСТ Р 51944-2002 «МЯСО ПТИЦЫ. Методы определения органолептических показателей, температуры и массы»
Дата проведения испытания	01.02.2021
Объем образцов	2 г
Тип прибора	
Методика проведения	
Технические требования	ГОСТ Р 51944-2002 «МЯСО ПТИЦЫ. Методы определения органолептических показателей, температуры и массы»

Заключение:

Наименование показателя	Характеристика
Форма	Овальная
Цвет	Светло-розовый
Консистенция	Плотная
Масса, г	0,8-1,1

Исследование провели:

Инженер  Кошлатый И.Н.

Инженер  Шубина Е.Ю.

Зам. директора ЕЛК:  Шацких Е.В.

Директор ЕЛК:  Кольберг Н.А.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
 высшего образования «Уральский экономический университет»
 юридический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
 фактический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45

УФК по Свердловской области (УрГЭУ л/с 20626Х67930)
 ИНН/КПП 6661003675/667101001
 БИК 046577001 в Уральском ГУ Банка России г. Екатеринбург
 р/сч 40501810100002000002

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ

№ 65-10 -22.01.2021

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
 ЕДИНОВОГО ЛАБОРАТОРНОГО КОМПЛЕКСА УрГЭУ

Заказчик	Леонтьева С.А.
Основание	Заявка по теме НИР №
Объект	Фабрицева сумка цыплят бройлеров
Условия проведения испытаний	Лабораторные условия НИЛ
Вид материала	Лимфоэпителиальный орган
Место отбора пробы	Лабораторные условия НИЛ, соответствующие нормативным требованиям
Дата отбора (получения образцов)	22.01.2021
Метод отбора образцов	ГОСТ 23042-2015 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ. Методы определения жира»
Дата проведения испытания	22.01.2021
Объем образцов	2 г
Методика проведения	Метод основан на многократной экстракции жира растворителем из высушенной анализируемой пробы с последующим удалением растворителя и высушивании выделенного жира до постоянной массы.
Технические требования	ГОСТ 23042-2015 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ. Методы определения жира»

Заключение:

Наименование показателя	Характеристика
Жир, %	4-6

Исследование провели:

Инженер  Кошлатый И.Н.

Инженер  Шубина Е.Ю.

Зам. директора ЕЛК:  Шацких Е.В.

Директор ЕЛК:  Кольберг Н.А.



УРАЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ЭКОНОМИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
УрГЭУ-СНХ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский экономический университет»
юридический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
фактический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45

УФК по Свердловской области (УрГЭУ л/с 20626Х67930)
ИНН/КПП 6661003675/667101001
БИК 046577001 в Уральском ГУ Банка России г. Екатеринбург
р/сч 40501810100002000002

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ

№ 65-08 - 22.01.2021


НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
ЕДИНОГО ЛАБОРАТОРНОГО КОМПЛЕКСА УрГЭУ

Заказчик	Леонтьева С.А.
Основание	Заявка по теме НИР №
Объект	Фабрициева сумка цыплят бройлеров
Условия проведения испытаний	Лабораторные условия НИЛ
Вид материала	Лимфоэпителиальный орган
Место отбора пробы	Лабораторные условия НИЛ, соответствующие нормативным требованиям
Дата отбора (получения образцов)	22.01.2021
Метод отбора образцов	ГОСТ 31727-2012 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ Метод определения массовой доли общей золы»
Дата проведения испытания	22.01.2021
Объем образцов	2 г
Методика проведения	Метод основан на высушивании, обугливание, озолении при температуре (550±25) °С пробы для испытания и последующем определении массовой доли общей золы.
Технические требования	ГОСТ 31727-2012 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ Метод определения массовой доли общей золы»

Заключение:

Наименование показателя	Характеристика
Зола, %	1-2

Исследование провели:

Инженер  Кошлатый И.Н.

Инженер  Шубина Е.Ю.

Зам. директора ЕЛК:  Шацких Е.В.

Директор ЕЛК:  Кольберг Н.А.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
 высшего образования «Уральский экономический университет»
 юридический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
 фактический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45

УФК по Свердловской области (УрГЭУ л/с 20626Х67930)
 ИНН/КПП 6661003675/667101001
 БИК 046577001 в Уральском ГУ Банка России г. Екатеринбург
 р/сч 40501810100002000002

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ

№ 65-07__ - 22.01.2021

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
 ЕДИНОГО ЛАБОРАТОРНОГО КОМПЛЕКСА УрГЭУ

Заказчик	Леонтьева С.А.
Основание	Заявка по теме НИР №
Объект	Фабрициева сумка цыплят бройлеров
Условия проведения испытаний	Лабораторные условия НИЛ
Вид материала	Лимфоэпителиальный орган
Место отбора пробы	Лабораторные условия НИЛ, соответствующие нормативным требованиям
Дата отбора (получения образцов)	22.01.2021
Метод отбора образцов	ГОСТ 33319-2015 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ. Метод определения массовой доли влаги»
Дата проведения испытания	22.01.2021
Объем образцов	2 г
Методика проведения	Метод основан на высушивании анализируемой пробы с песком до постоянной массы при температуре (103±2)°С.
Технические требования	ГОСТ 33319-2015 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ. Метод определения массовой доли влаги»

Заключение:

Наименование показателя	Характеристика
Влага, %	69-75

Исследование провели:

Инженер  Кошлатый И.Н.

Инженер  Шубина Е.Ю.

Зам. директора ЕЛК:  Шацких Е.В.

Директор ЕЛК:  Кольберг Н.А.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
 высшего образования «Уральский экономический университет»
 юридический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
 фактический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45

УФК по Свердловской области (УрГЭУ л/с 20626Х67930)
 ИНН/КПП 6661003675/667101001
 БИК 046577001 в Уральском ГУ Банка России г. Екатеринбург
 р/сч 40501810100002000002

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ

№ 65-06 - 22.01.2021

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
 ЕДИНОГО ЛАБОРАТОРНОГО КОМПЛЕКСА УрГЭУ

Заказчик	Леонтьева С.А.
Основание	Заявка по теме НИР №
Объект	Фабрициева сумка цыплят бройлеров
Условия проведения испытаний	Лабораторные условия НИЛ
Вид материала	Лимфоэпителиальный орган
Место отбора пробы	Лабораторные условия НИЛ, соответствующие нормативным требованиям
Дата отбора (получения образцов)	22.01.2021
Метод отбора образцов	ГОСТ 25011-2017 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ. Методы определения белка»
Дата проведения испытания	22.01.2021
Объем образцов	2 г
Методика проведения	Спектрофотометрический метод в диапазоне измерений от 1,0% до 40,0%
Технические требования	ГОСТ 25011-2017 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ. Методы определения белка»

Заключение:

Наименование показателя	Характеристика
Белок, %	21-25

Исследование провели:

Инженер  Кошлатый И.Н.

Инженер  Шубина Е.Ю.

Зам. директора ЕЛК:  Шацких Е.В.

Директор ЕЛК:  Кольберг Н.А.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
 высшего образования «Уральский экономический университет»
 юридический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
 фактический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45

УФК по Свердловской области (UrFU л/с 20626Х67930)
 ИНН/КПП 6661003675/667101001
 БИК 046577001 в Уральском ГУ Банка России г. Екатеринбург
 р/сч 40501810100002000002

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ

№ 65-05 - 22.01.2021

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
 ЕДИНОГО ЛАБОРАТОРНОГО КОМПЛЕКСА УрГУ


Заказчик	Леонтьева С.А.
Основание	Заявка по теме НИР №
Объект	Фабрициева сумка цыплят бройлеров
Условия проведения испытаний	Лабораторные условия НИЛ
Вид материала	Лимфоэпителиальный орган
Место отбора пробы	Лабораторные условия НИЛ, соответствующие нормативным требованиям
Дата отбора (получения образцов)	22.01.2021
Метод отбора образцов	ГОСТ Р 51478-99 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ Контрольный метод определения концентрации водородных ионов (рН)»
Дата проведения испытания	22.01.2021
Объем образцов	2 г
Методика проведения	Измерение разности электрических потенциалов между стеклянным электродом и электродом сравнения, помещенными в образец мяса или мясных продуктов.
Технические требования	ГОСТ Р 51478-99 «МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ Контрольный метод определения концентрации водородных ионов (рН)»

Заключение:

Наименование показателя	Характеристика
pH	5,9-6,2

Исследование провели:

Инженер  Кошлатый И.Н.

Инженер  Шубина Е.Ю.

Зам. директора ЕЛК:  Шацких Е.В.

Директор ЕЛК:  Кольберг Н.А.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
 высшего образования «Уральский экономический университет»
 юридический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
 фактический адрес: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45

УФК по Свердловской области (УрГЭУ л/с 20626Х67930)
 ИНН/КПП 6661003675/667101001
 БИК 046577001 в Уральском ГУ Банка России г. Екатеринбург
 р/сч 40501810100002000002

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ

№ 60-10-22.12.2020

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
 ЕДИНОГО ЛАБОРАТОРНОГО КОМПЛЕКСА УрГЭУ

Заказчик	Леонтьева С.А.
Основание	Заявка по теме НИР №
Объект	Папайновый гидролизат фабрициевой сумки цыплят-бройлеров
Условия проведения испытаний	Лабораторные условия НИЛ
Вид материала	Гидролизат
Место отбора пробы	Лабораторные условия НИЛ, соответствующие нормативным требованиям
Дата отбора (получения образцов)	22.12.2020
Дата проведения испытания	22.12.2020
Объем образцов	100 г
Тип прибора	Agilent Technologies
Методика проведения	По методике AgilentTechnologies
Технические требования	Хроматографический метод. Аминокислоты определяли с помощью ионообменной хроматографии на хроматографе AgilentTechnologies.

Заключение:

Заказчик	Леонтьева С.А.
Наименование аминокислоты	Количество, г/100 г белка
Trp	1,3
Phe	4,7
Leu	12,5
Ile	8,3
Thr	4,2
Met	4,7
Lys	9,6
Val	5,8
His	5,2
Arg	3,7
Ala	6,7
Ser	3,2
Glu	10,1
Asp	4,0
Cys	2,1
Tyr	7,8
Gly	6,1
Итого	100

Исследование провели:

Инженер  Кошлатый И.Н.

Инженер  Шубина Е.Ю.

Зам. директора ЕЛК:  Шацких Е.В.

Директор ЕЛК:  Кольберг Н.А.