

INHIBICIJA PROTEOLITSKOG DJELOVANJA MIKROBNIH PROTEINAZA I PEPTIDAZA U BURAGU PREŽIVAČA

INHIBITION OF PROTEOLYTIC ACTIVITY OF MICROBIAL PROTEASES AND PEPTIDASES IN THE RUMEN OF RUMINANTS

A. Gašparič, A. Orešnik

Prethodno priopćenje
UDK: 636.2.:636.087.7
Primljeno: 16. lipanj 1997.

SAŽETAK

U pokusu su provedena istraživanja točne koncentracije kestenovog tanina (dobi-venog iz komercijalnog pripravka Farmatana) koji je u umjetnom buragu vršio razgradnju bjelančevina biljnog i životinjskog podrijetla. U provedenim pokusima in vitro simulirani su prirodni uvjeti obogaćene kulture proteoliznih mikroorganizama izoliranih iz miješane mikrobne populacije uz pomoć uzgoja u gojilištima s bjelančevinastim supstratom: mesno brašno, sojina sačma i sok od trave. Za kontrolu je korišteno proteolizno djelovanje za proteolitske mikroorganizme obogaćenih mikrobnih kultura i proteolizno za proteolitske mikroorganizme obogaćenih mikrobnih kultura i proteolizno djelovanje "normalne" - neobogaćene buragove mikrobne populacije. Vršena je kontrola djelovanja običnih proteoliznih enzima iz buragova soka, kao i djelovanje proteoliznih enzima u peleti (nakon centrifugiranja mikrobne kulture pri 12,000 x g) te proteinaza vezanih na stanice mikroorganizama.

Kod in vitro analiza razgradnja azokazeina utvrđeno je da počinje razgradnja spomenutog bjelančevinastog; supstrata koji sadrži koncentracije Farmatana više od 400 $\mu\text{g ml}^{-1}$ reakcijske smjese. Pedeset postotno inhibiciono djelovanje proteoliznih enzima postiže se već pri koncentraciji Farmatana 1,000 mg ml^{-1} reakcijske smjese. To je upravo koncentracija koja zadovoljava brzu potpunu inhibiciju proteoliznog djelovanja čistih proteoliznih bakterijskih djelovanja u epruveti, očito pak ne zadovoljava za jednaku učinkovitost inhibiciju proteinaza u umjetnom buragu i in vivo. Devedeset postotni učinak je postignut već kod koncentracije Farmatana od 4 do 6 mg ml^{-1} .

UVOD

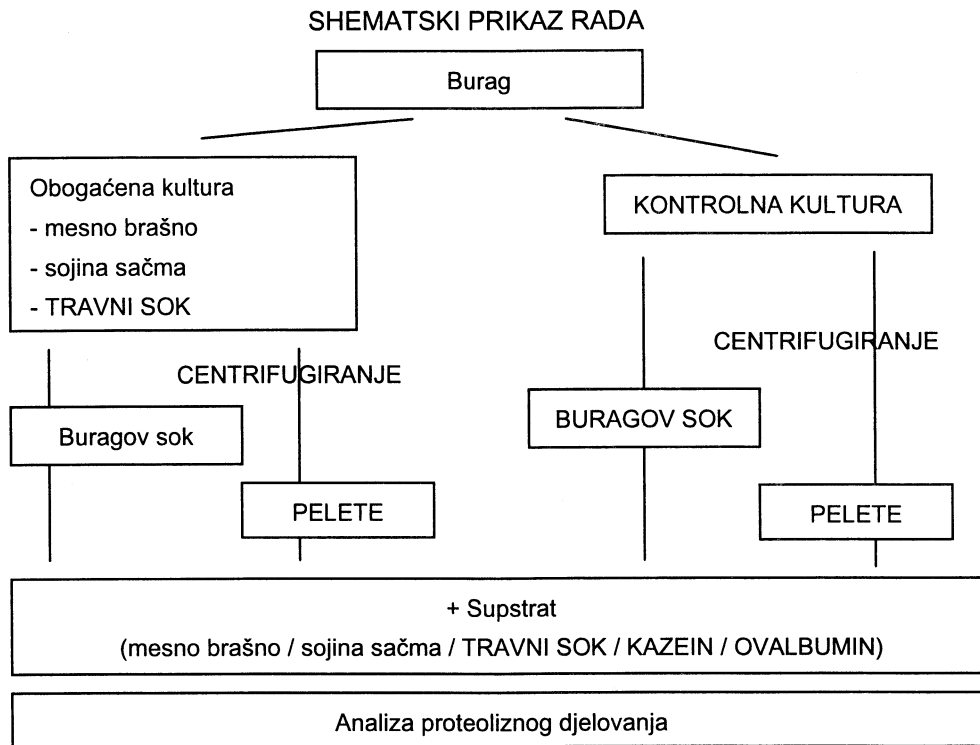
Razgradnju bjelančevina na račun djelovanja mikroorganizama buraga mogu se promatrati s dva stajališta. Prva je inhibicija proteinaza, a druga je pak inhibicija djelovanja peptidaza. Danas postoje vrste specifičnih kemijskih inhibitora proteoliznih enzima i primjenljivi su samo in vitro: zbog toksičnosti mnogih i cijene koštanja preostalih nisu prihvatljivi za upotrebu in vitro. Tanin, koji se ne

ubraja u inhibitore proteinaza, zbog svoga djelovanja obaranja bjelančevina, zadire u mikrobnu razgradnju kvalitetnih prehrambenih bjelančevina u buragu. Istraživan je prije svega utjecaj kondenziranih tanina na razgradnju bjelančevina u kompleksnom mikrobnom sustavu buraga (in vivo),

Dr. dipl. biol. Aleš Gašparič i prof. dr. dr. vet. med. Andrej Orešnik, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, Domžale, Slovenija.

s tim da je utvrđivana razina upotrebljenih bjelančevina u stražnjem dijelu probavnog trakta.

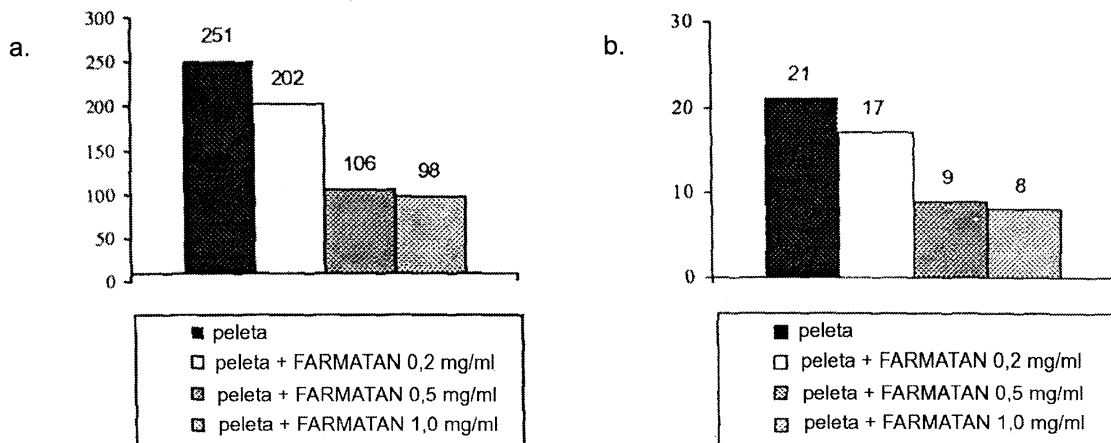
Analiza utjecaja obrade mikrobnih proteinaza s Farmatanom na njihovo proteolizno djelovanje.



Grafikon 1. Pelete za proteolizne buragove mikroorganizme obogaćene mikrobnom kulturom sa supstratom (azokazein). Pred inkubaciju sa supstratom peleta je bila obrađena s tri različite koncentracije taninskog pripravka Farmatana. Vrijeme inkubacije 12 sati.

a. Proteolizna aktivnost u peleti koja je dobivena iz 1 ml homogeniziranog sadržaja buraga.

b. Proteolizna aktivnost preračunata na mg bjelančevina u peleti.



Enzimski aktivnost je označena na osi y milijedinicama. Jedna jedinica proteoliznog djelovanja je definirana kao količina enzima koji uzrokuju promjenu u apsorpciji za 1,0 u kiveti 1 cm u stvorenim uvjetima reakcije.

SUMMARY

In the trials were investigated the exact rumen concentrations of chestnut tannin (obtained from the commercial preparation Farmatan) which in artificial rumen actively carried out the disintegration of proteins of vegetable and animal origin. In the trials in vitro natural conditions were simulated of enriched culture of proteolytic microorganisms isolated from mixed microbial population by means of breeding medium protein substrate: meat flour, soya meal and grass juice. In the control proteolytic activity was used for proteolytic microorganisms of enriched microbial cultures and proteolytic activity of "normal" – nonenriched microbial population in the rumen. The activity of common proteolytic enzymes from the rumen juice as well as the activity of proteolysis enzymes in the pellet (after centrifugation of microbial culture at 12.000 x g) and proteases bound to microorganism cells.

In in vitro analyses of azocasein disintegration the beginning of disintegration was established of the said protein substrate containing Farmatan concentrations higher than 400 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of the reaction mixture. The fifty percent inhibition activity of proteolytic enzymes is achieved already at farmatan concentration of 1.000 mg ml^{-1} of reaction mixture. This is just the concentration satisfying fast complete inhibition of proteolytic activity of the pure proteolytic bacterial activity in the test tube, but it obviously does not satisfy equal active proteinase inhibition in artificial rumen and in vivo. Ninety-nine percent effect was achieved already at Farmatan concentration of 4 to 6 mg ml^{-1} .

EKOLOŠKO ČIST UTOVAR KAMIONSKIH CISTERNI I OTVORENIH KAMIONA

MODUFLEX

TELESKOPSKA CIJEV I FLEKSIBILNI UTOVARNI MIJEH
REDUCIRAJU PRAŠINU, SMANJUJU RASIPANJE
MATERIJALA I POBOLJŠAVAJU RADNU OKOLINU.

MODULNA KONSTRUKCIJA I ŠIROK IZBOR RAZLIČITOG PRIBORA.

Javite nam se, da Vam pošaljemo prospektni materijal

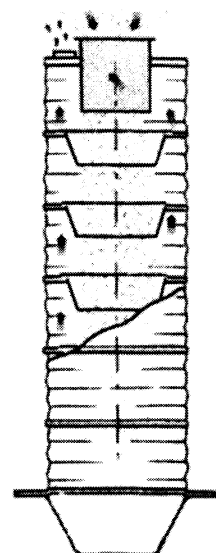
DENCO Engineering & Trade Co. Ltd.

P.O. box 185, Zihherlova 2

SLO-1001 Ljubljana

Tel.: +386 61 125 32 10

Fax.: +386 61 125 32 37



MODUFLEX