УДК 602.4:[577.15:577.114.4]:635.342

ЧЕРНО Н.К., д-р техн наук, професор, СТАНКЕВИЧ Г.М., д-р техн. наук, професор,
ОЗОЛІНА С.О., канд. хім наук, доцент, ТІРОН-ВОРОБЙОВА Н.Б.
Одеська національна академія харчових технологій

ВИЗНАЧЕННЯ РАЦІОНАЛЬНИХ РЕЖИМІВ КОНЦЕНТРУВАННЯ ЛІЗОЦИМНОЇ СКЛАДОВОЇ КАПУСТИ БІЛОКАЧАННОЇ (BRASSICA OLERACEA) ШЛЯХОМ КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ З ІОНОГЕННИМИ ПОЛІСАХАРИДАМИ

Показана можливість концентрування лізоцимної складової *Brassica oleracea* у складі лізоцимовмісних біополімерних комплексів, які утворюються при взаємодії білків сировини з катіонними та аніонними полісахаридами. Визначено раціональні режими вилучення лізоцимної складової з соку *Brassica oleracea*.

Ключові слова: лізоцим, *Brassica oleracea*, комплексоутворення, математичне планування багатофакторних експериментів.

Demonstrate the possibility of concentrating lysozyme of *Brassica oleracea* in the lysozyme biopolymer complexes, which are formed by the interaction of proteins with cationic and anionic polysaccharides. Determined rational modes of lysozyme extraction from the *Brassica oleracea* juice.

Keywords: lysozyme, *Brassica oleracea*, complexation, mathematical planning of multifactor experiments.

Лізоцим — природний антибіотик, який використовують у складі продуктів, призначених для оздоровчого харчування. Його застосовують як у вигляді монопрепарату, так і у складі комплексних засобів разом із ферментами, полісахаридами, деякими неорганічними сполуками. Він входить до складу кисломолочних продуктів, призначених переважно для дітей як антибактеріальний агент. Останнім часом відбувається розширення спектру дієтичних добавок, ферментних та фармацевтичних препаратів, що містять лізоцим [1].

Однак всі зазначені препарати створено на основі лізоциму білку курячих яєць, у той час як відомо, що при вживанні людиною тваринних ферментів можливі побічні ефекти, які не притаманні переважній більшості рослин і отриманих з них ферментів. Тому нутріціологи віддають перевагу харчовим добавкам рослинного походження [2].

Вилучення високоочищених препаратів лізоциму з рослинної сировини здійснюють специфічною фермент-субстратною хроматографією на хітиновому або деяких інших носіях. Але такі методи доцільно використовувати у наукових дослідженнях, оскільки вони є надто складними і високовартісними. Промисловим методом добування лізоциму є пряма кристалізація його з білку курячих яєць. Але в літературних джерелах є посилання на можливість його концентрування за допомогою аніонних полісахаридів [3].

Відомо, що високим вмістом лізоциму характеризуються такі рослини, як папайя, фігове дерево, хрін звичайний, редька, ріпа, капуста. З сировини, яка вирощується на території України у промислових масштабах, найбільш перспективними є представники сімейства капустяних. Серед них як джерело лізоциму було обрано капусту білокачанну (*Brassica oleracea*).

Лізоцимна активність притаманна соковій частині *Brassica oleracea*. В основу концентрування лізоциму було покладено процес його взаємодії з високомолекулярними вуглеводами, що супроводжується створенням нерозчинних білок-полісахаридних комплексів.

Метою дослідження було визначення раціональних режимів вилучення лізоцимної складової з соку *Brassica oleracea.*

Для цього до соку *Brassica oleracea* додавали послідовно розчини пектину і хітозану (у об'ємному співвідношенні 60 см^3 сік : 9 см^3 полісахарид). Отриману реакційну суміш витримували 30 хвилин (тривалість процесу було визначено нефелометричним методом). Отримані нерозчинні комплекси відокремлювали від супернатанту центрифугуванням і далі визначали їх лізоцимну активність.

Слід зазначити, що при утворенні нерозчинних комплексів суттєво значущим фактором, що впливає на вихід і лізоцимну активність, є величина pH середовища [4]. Цей показник варіювали у межах від 3,0 до 8,0 од. pH, зважив-ши на те, що у занадто лужних і кислих розчинах можливі денатураційні процеси, і втрата лізоцимом його активності, а також знижується ймовірність електростатичної взаємодії між протилежно зарядженими функціональними групами біополімерів.

Для визначення умов максимального вилучення лізоцимної складової з сировини необхідно визначити вплив величини pH реакційного середовища та маси $m_{пол}$ полісахаридів (пектину або хітозану), що додаються до соку, на вихід (масову частку) $y_{ЛА}$ лізоциму, який переходить з сокової частини до складу нерозчинного комплексу. Цей показник визначали, оцінюючи лізоцимну активність соку та отриманих комплексів.

З метою скорочення кількості дослідів і отримання достовірних даних про закономірності перебігу процесу "комплексоутворення" доцільним є застосування методів математичного планування багатофакторних експериментів. Враховуючи, що залежність виходу лізоциму $y_{ЛА}$ від факторів pH та $m_{пол}$ має нелінійний характер, для досліджень був обраний близький до D-оптимального квадратичний план Бокса типу B_2 з додатковим дослідом у центрі експерименту, який дозволив отримати рівняння регресії виду:

$$y_{ЛА} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_{12} + b_{22}x_{22} + b_{12}x_1x_2, \quad (1)$$

де b_i – коефіцієнти регресії, які визначаються методом найменших квадратів;

x_1, x_2 – кодовані значення факторів відповідно pH та $m_{пол}$.

Умови дослідів, усереднені експериментальні $y_{сер}$ та розраховані y_p за рівнянням типу (1) значення лізоцимної активності комплексів білок-полісахарид, отриманих з *Brassica oleracea* зв'язуванням з яблуневим пектином і хітозаном, наведено у табл. 1.

Використовуючи метод найменших квадратів і послідовний регресійний аналіз [5-7], отримали на- ступні рівняння регресії, які з достовірністю 95 % адекватно описують експериментальні дані залежності концентрування лізоцимної складової комплексоутворенням з яблуневим пектином і хітозаном:

– для комплексу з яблуневим пектином:

$$y_{ЛА} = 64{,}68 - 6{,}5x_1 - 3{,}42x_2 - 17{,}07x_1^2 - 23{,}62x_2^2;$$

– для комплексу з хітозаном:

$$y_{ЛА} = 83{,}84 + 13{,}43x_1 - 20{,}28x_2 - 13{,}87x_1^2 - 17{,}32x_2^2.$$

Таблиця 1

Матриця плану експериментів і результати залежності лізоцимної активності комплексів білок-полісахарид при різних значеннях pH середовища і маси полісахаридів

Комплекс з яблуневим пектином						Комплекс з хітозаном					
N	Умови дослідів		Вихід лізоциму, %		Відносна похибка, %	N	Умови дослідів		Вихід лізоциму, %		Відносна похибка, %
	x_1	x_2	$y_{сер}$	$y_р$			x_1	x_2	$y_{сер}$	$y_р$	
1	50	4	22,1	20,9	5,38	1	50	4	61,4	59,5	3,08
2	250	4	32,8	33,9	3,39	2	250	4	85,9	86,4	0,56
3	50	8	15,2	14,1	7,38	3	50	8	18,6	18,9	1,85
4	250	8	25,2	27,1	7,45	4	250	8	44,9	45,8	2,03
5	50	6	38,8	41,1	5,96	5	50	6	55,0	56,5	2,81
6	250	6	57,1	54,1	5,23	6	250	6	84,8	83,4	1,64
7	150	4	44,4	44,5	0,18	7	150	4	85,4	86,8	1,65
8	150	8	38,4	37,6	1,97	8	150	8	47,5	46,2	2,64
9	150	6	64,0	64,7	1,06	9	150	6	84,0	83,8	0,19

Перехід від кодованих до натуральних змінних виконується за співвідношеннями:

$$x_1 = \frac{pH - 6}{2}; \quad x_2 = \frac{m_{пол} - 50}{100}.$$

Деякі статистичні характеристики отриманих рівнянь регресії наведено у табл. 2.

Таблиця 2

Статистичні характеристики рівнянь регресії

Статистичні показники	Комплекс з яблуневим пектином	Комплекс з хітозаном
Дисперсії:		
похибки досліду	5,29	18,49
неадекватності	5,69	3,16
Середньоквадратичні відхилення:		
похибки досліду	2,30	4,30
неадекватності	2,38	1,78
Критерій Фішера:		
розрахункове значення	1,07	5,85
критичне значення	5,19	6,59

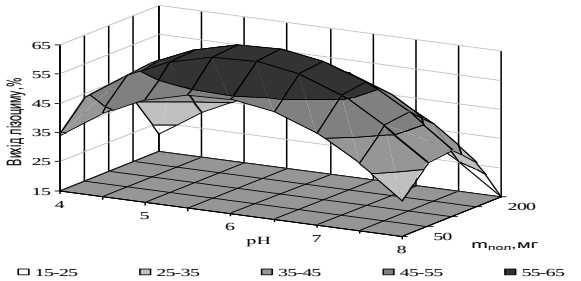
Для наочного уявлення характеру залежності лізоцимної активності наведених комплексів від досліджених факторів pH середовища та маси $m_{пол}$ полісахаридів за отриманими рівняннями регресії були побудовані відповідні поверхні відгуку, наведені на рис. 1.

На основі рівнянь регресії були визначені значення pH та $m_{пол}$, за яких забезпечується максимальна лізоцимна активність досліджуваних комплексів з соковой частини *Brassica oleracea*:

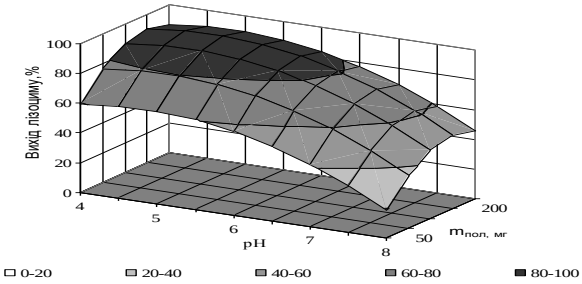
– для комплексу з пектином pH = 6,0 та $m_{пол}$ = 150,0 мг, вихід лізоциму $y_{ЛА}$ = 65,4 %;

– для комплексу з хітозаном pH = 5,0 та $m_{пол}$ = 200,0 мг, вихід лізоциму $y_{ЛА}$ = 93,0 %.

Аналіз побудованих поверхонь відгуку, наведених на рис. 1 наочно показує, що при значенні pH 5,0 і маси полісахариду — хітозану (200 мг) у розрахунку до 100 см^3 сокової частини *Brassica oleracea* спостерігається максимальний перехід лізоциму до складу отриманого комплексу. Щодо досліджуваного комплексу з пектином, маса його при максимумі лізоцимної активності (65,4 %) складала 150 мг і значенні pH = 6,0.



а) з яблуневим пектином



б) з хітозаном

Рис. 1. Залежність лізоцимної активності комплексів *Brassica oleracea* від величини pH та маси $m_{пол}$ полісахаридів

Висновки. Раціональними умовами процесу вилучення лізоциму з соку Brassica oleracea (100 см^3) комплексоутворенням з пектином або хітозаном слід вважати відповідно такі: маса полісахариду — 150,0 і 200,0 мг, величина pH — 6,0 та 5,0 од. pH. При цьому максимальний перехід лізоциму до складу лізоцимовмісних комплексів з пектином і хітозаном складає відповідно 65,4 та 93,0 % від активності соку.

Поступила 08.2011

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дорофейчук, В.Г. Механизмы защитной функции лизоцима, фундаментальное и прикладное значение [Текст] / В.Г. Дорофейчук // Нижегор. мед. журнал. – 1996. – № 2. – С. 9-13.

2. Weiss, M.S. Crystallization, structure solution and refinement of hen egg-white lysozyme at pH 8,0 in the presence of MPD [Text] / M.S. Weiss, G.J. Palm, R. Hilgenfeld // Acta crystallogr. D. – 2000. – Vol. 56. – P. 952-958.

3. Афанасьева, Т.И. Работы З.В. Ермольевой и ее школы в области выделения и изучения лизоцима [Текст] / Т.И. Афанасьева // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – № 5. – С. 18-23.

4. Тірон-Воробйова, Н.Б. Вилучення ферментних комплексів з лізоцимною активністю з рослинної сировини [Текст] / Н.Б. Тірон-Воробйова, О.В. Біла // Актуальні проблеми розвитку харчових виробництв, ресторанного господарства і торгівлі: тези доп. Всеукр. наук. конф. студ. і молод. вчених, Харків, 20 квітня 2010 р., ХДУХТ – Х., 2010. – С. 6.
5. Ахназарова, С.Л. Методы оптимизации эксперимента в химической технологии [Текст] / С.Л. Ахназарова, В.В. Кафаров – М.: Высш. шк., 1985. – 327 с.
6. Математическое моделирование процессов пищевых производств [Текст] / Н.В. Остапчук, В.Д. Каминский, Г.Н. Станкевич, В.П. Чучуй – К.: Вища школа. – 1992. – 175 с.
7. Остапчук, М.В. Математичне моделювання на ЕОМ: Підручник. [Текст] / М.В. Остапчук, Г.М. Станкевич – Одеса: Друк, 2006. – 313 с.

УДК 663.2

БОНДАР М. В., канд. техн. наук, доцент
Національний університет харчових технологій, м. Київ

ВПЛИВ АНТИСЕПТИЧНИХ ЗАСОБІВ НА ДРІЖДЖІ У СПИРТОВОМУ ВИРОБНИЦТВІ

Проведено порівняльну оцінку впливу найбільш поширених антисептичних засобів на динаміку накопичення виробничих дріжджів у спиртовому виробництві. Встановлено концентрації антисептиків, за яких вони не мали негативного впливу на дріжджові клітини.

Ключові слова: виробництво спирту, антисептичні засоби, виробничі дріжджі.

The comparative evaluation of the most effective antiseptic's influence on the life activity of yeasts has been realized. The antiseptic's permissible concentrations which not influenced to the yeast's life activity have been established.

Keywords: production of alcohol, antiseptic facilities, production yeasts.

В останні роки на більшості спиртових підприємств України впроваджено термоферментативну обробку замісів із використанням концентрованих ферментних препаратів. Така енерго- та ресурсозберігаюча технологія забезпечує лише пастеризацію середовища, на відміну від традиційних методів підготовки сировини до зброджування, які передбачають її стерилізацію при температурі 145-170 °С залежно від схеми розварювання. Тому в процесі культивування дріжджів і зброджування сусла існує ризик надмірного наростання кислотності бражки, особливо у разі перероблювання в спирт нетрадиційних і некондиційних видів сировини, що призводить до зниження виходу спирту та погіршення його якості [1,2].

У зв'язку з цим виникла необхідність пошуку ефективних антисептичних засобів для боротьби із сторонньою мікрофлорою спиртового виробництва, які пригнічують її розвиток [3].

Нині найбільш поширеними у бродильній промисловості є такі антисептичні препарати, як "Дівозан Форте", "Вазин", "Сульфонол" та "Полідез", основні характеристики яких наведено у табл. 1.

Відмінності у хімічному складі зазначених антисептичних засобів дають змогу прогнозувати їх різний вплив на життєдіяльність основної бродильної мікрофлори спиртового виробництва – спиртових рас дріжджів.

З метою вивчення впливу досліджуваних антисептичних засобів на розвиток і життєдіяльність дріжджів досліджували динаміку накопичення дріжджових клітин у суслі із жита. Для виділення та зберігання чистих культур дріжджів використовували середовище сусло-агар, яке готували за загальноприйнятою методикою [4]. Поживні середовища для засівних дріжджів готували з використанням пивного сусла концентрацією 8-9 % сухих речовин. Загальну кількість дріжджових клітин в 1 $см^3$ середовища визначали методом прямого підрахунку у камері Горяєва [4,5].

Чисту культуру дріжджів вносили у кількості 20-30 млн/$см^3$ сусла. Тривалість генерації біомаси дріжджів складала 16-24 години. Контролем було сусло, зброджуване без внесення антисептиків. Вплив антисептичного засобу "Полідез" на динаміку накопичення біомаси дріжджів досліджували із внесенням зазначеного антисептика в сусло у концентраціях 10, 20, та 50 $см^3/м^3$. В результаті проведених досліджень встановлено, що внесення антисептичного засобу "Полідез" у концентрації 10 $см^3/м^3$ сусла сприяло підвищенню швидкості росту дріжджів та збільшенню їх біомаси на 5,6 % порівняно із контрольним зразком – суслом без антисептиків (рис.1).

Підвищення концентрації антисептика "Полідез" до 20 $см^3/м^3$ сусла дещо знижувало швидкість розмноження дріжджових клітин, проте накопичення їх біомаси проходило більш інтенсивно, ніж у контролі. У разі внесення досліджуваного антисептика у концентрації 50 $см^3/м^3$ відмічалось зниження швидкості росту дріжджів на 10,3-18,5 %, порівняно з контрольним зразком. Вплив антисептуючого засобу "Сульфонол" на генеративну активність виробничих дріжджів досліджували при внесенні його в сусло у концентраціях 25, 50 та 100 $г/м^3$.

Встановлено, що внесення зазначеного антисептика у концентрації 25 $г/м^3$ не впливало на швидкість розмноження дріжджових клітин в перші 8 годин їх культивування, проте в подальшому швидкість накопичення біомаси дріжджів перевищувала швидкість їх генерування у контрольному зразку на 4,3-8,4 % (рис. 2). Підвищення концентрації антисептичного засобу "Сульфонол" до 50 $г/м^3$ сусла призводило до зниження активності розмноження дріжджів у суслі у перші

Таблиця 1

Порівняльна характеристика досліджуваних антисептичних засобів

Антисептик / Показники	"Дезактин"	"Вазин"	"Сульфонол"	"Полідез"
Діюча речовина	Активний хлор	1,3,5-три (β-гідроксиетил) гексагідро-S-триазину	$C_{12}H_{23}C_6H_4SO_3Na$ додецілбензосульфонат натрію	Полігексаметиленгуанідин (ПГМГ)
Концентрація діючої речовини, %	50	46-51	35-70	20
Розчинність у воді	Добра	Добра	Задовільна	Добра
pH розчинів	> 7	< 7	11,0-12,0	6,0-9,0
Сумісність з матеріалами	Реакційно здатний до металевих поверхонь		Помірно реакційно здатний до металевих поверхонь, скла, полімерних матеріалів, гуми	Інертний до металевих поверхонь, скла, полімерних матеріалів, гуми