

7. Аналітична хімія залишкових кількостей пестицидів [Текст] / М. А. Клисенко [та ін.]. – К., 1999. – С. 18.

8. Lukacs, K. D. Capillary zone electrophoresis: Effect of physical parameters on separation efficiency and quantitation [Text] / K. D. Lukacs, J. W. Jorgenson // J. High Res. Chromatogr. – 1985. – № 8. – P. 407–411.

9. Kartsova, L. Capillary electrophoresis in analysis of chlorphenoxy acid herbicides and triazines in water [Text] / L. Kartsova, N. Komarova // Abstracts first Baltic symposium on environmental Chemistry / Tartu [Estonia]. – 2001. – P. 112–113.

10. Комарова, Я. С. Оптимизация условий разделения гербицидов класса хлорфеноксикарбоновых кислот в природных и питьевых водах методом капиллярного электрофореза [Текст] / Я. С. Комарова, Н. В. Карцова // Аналит. химия. – 2002. – Т.6, № 1. – С. 13–18.

Отримано 15.03.2009. ХДУХТ, Харків.

© І.В. Левчук, М.І. Осейко, 2009.

УДК 633.31:66.097.8:[577.15:544.475]

Н.К. Черно, д-р техн. наук (ОНАХТ, Одеса)

Г.В. Крусір, канд. техн. наук (ОНАХТ, Одеса)

Я.П. Русєва, асп. (ОНАХТ, Одеса)

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІНГІБІТОРУ ТРИПСИНУ НАСІННЯ ЛЮЦЕРНИ ТА БАД НА ЙОГО ОСНОВІ

Розглянуто фізико-хімічні показники інгібітору трипсину насіння люцерни та БАД на його основі. Показано, що рН- та термооптимиуми нативного інгібітору та БАД на його основі співпадають та становлять відповідно: рН 7,2 та 37° С. БАД на основі інгібітору трипсину характеризується більш значимими рН- та термостабільністю, що дозволяє прогнозувати її ефективне функціонування в умовах реального травлення та використання в складі харчових продуктів.

Рассмотрены физико-химические показатели ингибитора трипсина семян люцерны и БАД на его основе. Показано, что рН- и термооптимиумы нативного ингибитора и БАД на его основе совпадают и составляют соответственно: рН 7,2 и 37° С. БАД на основе ингибитора трипсина характеризуется более значительными рН- и термостабильностью, позволяющими прогнозировать ее эффективное функционирование в условиях реального пищеварения и использование в составе пищевых продуктов.

Physicochemical factors of alfalfa seed trypsin inhibitor and BAA on basis of it are considered. It is shown that рН- and thermooptimums of native inhibitor and BAA on basis of it agree and respectively compound: рН 7,2 and 37° С. BAA on basis of trypsin inhibitor is characterized by more considerable рН- and thermosta-

bility, that permit to predict its effective functioning in the conditions of real digestion and use in the composition of foodstuffs.

Постановка проблеми в загальному вигляді. Одним із актуальних та перспективних напрямків біотехнології є розробка харчових композицій, які спрямовано впливають на ферментативні процеси в організмі. Багато патологічних станів людини пов'язані з деформацією функціонування певних ферментативних систем, порушенням білкового обміну. Одним з шляхів його корекції є використання інгібіторів рослинного походження, які порівняно з мікробними та синтетичними аналогами характеризуються низькими алергізуючим потенціалом та токсичністю, відсутністю ефекту звикання і не пригнічують синтез власних ферментних систем в організмі. Білкові інгібітори протеолітичних ферментів відіграють важливу роль у підтримці гомеостазу. Вони беруть участь у регулюванні функцій протеаз шлунково-кишкового тракту, кровоносної системи, клітин шкіри та інших органів. У наш час багаточисельними лабораторними та клінічними дослідженнями доведено, що активація протеаз є основною ланкою в патогенезі таких тяжких захворювань людини, як панкреатити різної етіології, захворювання системи згортання крові, шоківий та алергічний стани, різні запальні процеси [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На даний час інгібітори протеолітичних ферментів виділені з рослин (бобів сої, картоплі, жита, пшениці, гречихи, чорної і звичайної квасолі, зеленого листа деяких трав) або синтезовані [2-6]. При прийомі рослинних інгібіторів протеолітичних ферментів відзначено регулюючий вплив на секрецію панкреатичних ферментів у людей [7].

Мета і завдання статті. Метою статті є дослідження та порівняння фізико-хімічних показників інгібітору трипсину, виділеного з насіння люцерни сорту Єва та біологічно активної добавки (БАД), яка містить інгібітор, та полісахарид рослинного походження.

Виклад основного матеріалу дослідження. Для прогнозування дії інгібітору та БАД на його основі та розробки технології харчового продукту функціонального призначення необхідно знати, які фактори і як впливають на активність інгібітору. При цьому найважливіше значення мають рН- та температура середовища, в якому діє інгібітор. Інгібітори ферментів призначені для уповільнення або пригнічення дії відповідних ферментів, тому рН- та термооптимум дії інгібітору є дуже важливими показниками.

В умовах організму рН середовища змінюється від кислого до лужного при просуванні через шлунково-кишковий тракт. Тому важливим показником є рН-стабільність. На рис. 1 та 2 показана зміна ак-

тивності інгібітору та БАД на його основі з часом при різних значеннях рН середовища при температурі $(37\pm 2)^\circ\text{C}$. Вибір значень рН та температури інкубації інгібітору та БАД пов'язаний з фізіологічними значеннями рН та температури $((37\pm 2)^\circ\text{C})$ шлунково-кишкового тракту та технологічними параметрами одержання БАД.

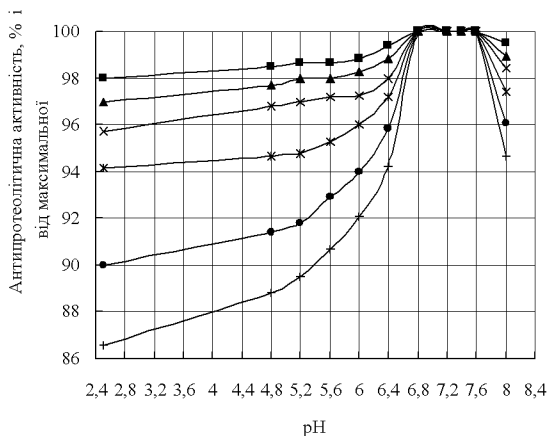


Рисунок 1 – рН-стабільність інгібітору трипсину, хв.:
■ – 20; ▲ – 40; × – 60; ж – 80; • – 100; + – 120

На основі наведених на рис. 1 даних експериментальних досліджень можна зробити висновок, що інгібітор насіння люцерни сорту Єва найбільш стабільний в діазоні рН 6,8...7,6 – після 20...120 хвилин інкубації інгібітору при цьому значенні рН середовища його активність становить 100% від максимальної. При рН інкубаційного середовища 2,5 антипротеолітична активність інгібітору знижується до 86,54% від вихідної після 120 хвилин інкубації інгібітору за даних умов при температурі 37°C .

На відміну від інтактного інгібітору насіння люцерни БАД, яка містить інгібітор, характеризується більш значною рН-стабільністю за тих же умов (рис. 2). Інгібітор у складі БАД також найбільш стабільний в діазоні рН 6,8...7,6. При рН 2,5 антиамілолітична активність БАД різко знижується через 120 хвилин, але на відміну від нативного інгібітору тільки до 88,08%.

Таким чином, порівнюючи рН-стабільність інгібітору трипсину насіння люцерни та відповідні характеристики БАД, що містить інгібітор, можна стверджувати, що умови, за яких функціонує інгібітор

є також оптимальними умовами роботи БАД. Дотримання даної вимоги є важливим чинником при розгляді інгібітору, що вивчається, як компоненту БАД з антипротеолітичною активністю.

Під час проведення реакції інгібування ферменту одночасно діють два різні чинники, що визначають вплив температури: з одного боку – збільшення початкової швидкості інгібування, з іншого – зміна структури інгібітору під дією температури, яка обумовлює зменшення інгібіторної активності.

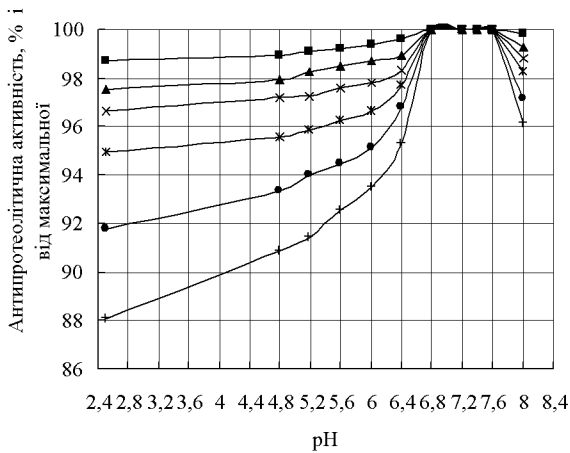


Рисунок 2 – рН-стабільність БАД, що містить інгібітор трипсину, хв:
■ – 20; ▲ – 40; × – 60; ж – 80; • – 100; + – 120

Враховуючи вище зазначене, надано порівняльну характеристику термічної стабільності інгібітору білкової природи з насіння люцерни сорту Єва та БАД функціонального призначення. Дана оцінка здатності інгібітору та БАД зберігати антипротеолітичну активність в наступних температурних режимах (рис. 3; 4): $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ – температура зберігання, $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ – температура функціонування інгібітору за умов реального травлення, (45 ± 2) і $(60\pm 2)^\circ\text{C}$ – можлива температура сушки під час виробництва БАД, що містить досліджуваний інгібітор.

Інтактний інгібітор найбільш стабільний при температурі $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ – після 120 хвилин інкубації інгібітору його активність практично не знижується. Найменш стабільний інгібітор при $(100\pm 2)^\circ\text{C}$: його активність протягом 120 хв знижується на 65,61%. Стабільність інгібітору при температурі $(40\pm 2)^\circ\text{C}$ дозволяє проводити його термічну обробку протягом всього досліджуваного часу (20...120 хв)

при отриманні БАД та продуктів, що містять даний інгібітор, з втра-тою інгібіторної активності на 11,10%.

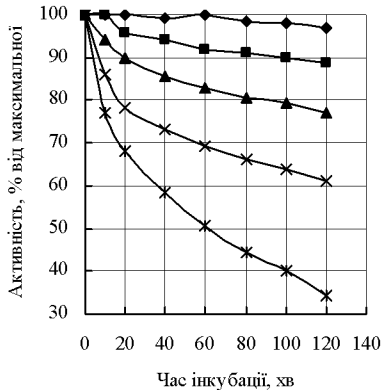


Рисунок 3 – Характеристика термостабільності інгібітору, °С: ◆ – 20; ■ – 40; ▲ – 60; × – 80; ж – 100

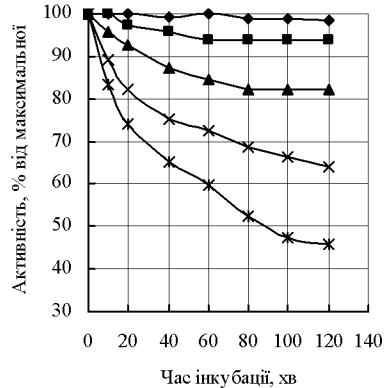


Рисунок 4 – Характеристика термостабільності БАД, °С: ◆ – 20; ■ – 40; ▲ – 60; × – 80; ж – 100

З наведених даних можна зробити висновок, що БАД характеризується більш значною термостабільністю порівняно з нативним інгібітором. Її активність протягом 120 хвилин знижується до 46%. Така висока термостабільність БАД дає можливість прогнозувати можливість її виробництва з використанням високих температурних режимів.

Висновки. Таким чином, порівняльна характеристика фізико-хімічних властивостей нативного інгібітору трипсину насіння люцерни та БАД на його основі переконливо свідчить про більш значну рН- та термостабільності БАД, що містить інгібітор трипсину насіння люцерни сорту Єва. Одержані експериментальні результати важливо врахувати при розробці технологічних режимів виробництва функціональних продуктів з використанням БАД функціонального призначення.

Список літератури

1. Сыновец, А. С. Ингибиторы протеолитических ферментов в медицине [Текст] / А. С. Сыновец, А. П. Левицкий. – 2-е изд., перераб. и доп. – К. : Здоровье, 1985. – 72 с.

2. Бибилова, М. В. Поиск фармакологически активных соединений среди ингибиторов ферментов микробного происхождения [Текст] / М. В. Бибилова, Л. П. Иваницкая // Антибиотики и химиотерапия. – 1991. – Т. 36, № 5. – С. 48–51.
3. Wu, C. Purification and partial characterization of four trypsin/chymotrypsin inhibitors from red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*, var. linden) [Text] / C. Wu, J. R. Whitaker // J. Agr. And Food Chem. – 1990. – Vol. 38, № 7. – P. 1523–1529.
4. Purification and partial characterization of a *Schizolobium parahyba* chymotrypsin inhibitor [Text] / M. T. Souza [et al.]. // *Phytochemistry*. – 1995. – Vol. 39, № 3. – P. 521–525.
5. Property and amino acid sequence of a subtilisin inhibitor from seeds of beach *Canavalia lineate* [Text] / K. Hideki [at al.] // *Biosci., Biotechnol. And Biochem.* – 1994. – Vol. 58, № 11. – P. 2004–2008.
6. Выделение и характеристика нового ингибитора трипсина и химотрипсина из клубней картофеля [Текст] / Т. А. Ревина [и др.] // *Биохимия*. – 1995. – Т. 60, вып. 11. – С. 1844–1851.
7. Сучасний стан застосування інгібіторів протеолітичних ферментів у медицині [Текст] / Н. Ф. Маслова [и др.] // *Ліки*. – 2003. – № 1–2. – С. 22–26.

Отримано 15.03.2009. ХДУХТ, Харків.

© Н.К. Черно, Г.В. Крусір, Я.П. Русева, 2009.

УДК [664.022.39 : 547.995] : 639.28

Н.К. Черно, д-р техн. наук (*ОНАХТ, Одеса*)

С.О. Озоліна, канд. хім. наук (*ОНАХТ, Одеса*)

Л.С. Гураль, канд. техн. наук (*ОНАХТ, Одеса*)

ГІДРОЛІЗ ХІТИНУ ПРЕПАРАТАМИ ДЕЯКИХ ГІДРОЛАЗ

Показано, що під дією гідролаз із неспецифічною хітинолітичною активністю (целовіридину, пепсину, панкреатину, лізоциму) на модифіковані хітин і хітин-протеїновий комплекс можна отримати водорозчинні низькомолекулярні вуглеводи. Під час одержання сполук, середній ступінь полімеризації яких наближається до двох, доцільно використовувати як гідролізуючий агент лізоцим, хітоолігомерів з більш високою молекулярною масою – панкреатин і целовіридин.

Показано, что под воздействием гидролаз с неспецифической активностью (целловиридина, пепсина, панкреатина, лизоцима) на модифицированные хитин и хитин-протеиновый комплекс можно получить водорастворимые низкомолекулярные углеводы. При получении соединений, средняя степень полимеризации которых приближается к двум, целесообразно использовать в