

10. Бражко О.А. Пошук біологічно активних речовин серед 2- і 4-тіопохідних хіноліну / О.А. Бражко // Вісник Запорізького державного університету. – 2003. – № 1. – С. 120-126.
11. Бражко О.А. Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук : спец. 02.00.10 «Біоорганічна хімія» / О.А. Бражко. – К., 2005. – 43 с.
12. Завгородній М.П. Біологічна активність нових 4-тіопохідних хіноліну : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 02.00.10 «Біоорганічна хімія» / М.П. Завгородній. – К., 2004. – 18 с.
13. Лабенська І.Б. Біологічна активність S-гетерилзаміщених L-ацетилцистеїну / Лабенська І.Б., Омельянчик Л.О., Бражко О.А. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2006. – Вип. XV, Т. 3. – С. 596.
14. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР.– 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

УДК 547.458.88: 547.96 – 035.57

## ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СИСТЕМ ВОДА–ЖЕЛАТИНА–НЕИОННЫЙ ПОЛИСАХАРИД

Лашко Н.П., к.х.н., доцент

*Запорожский национальный университет*

С помощью метода светорассеяния получены термодинамические характеристики различных типов межмолекулярных взаимодействий в системах вода-желатина-декстран, вода-агрегаты желатин-декстран. Показано, что определяющее значение в термодинамической несовместимости желатин с декстраном играет взаимодействие белка и полисахарида, характеризующееся положительной величиной второго вириального коэффициента  $A_{BP}$ . Термодинамическое сродство биополимеров (очень слабое комплексообразование) обеспечивает полную совместимость желатин с декстраном и характеризуется отрицательной величиной второго вириального коэффициента  $A_{BP}$ . Подавление комплексообразования приводит к термодинамической несовместимости биополимеров. Основной вклад во взаимодействие желатин с декстраном в этом случае вносит эффект исключенного объема, определяющийся размерами молекул.

*Ключевые слова: коллоидно-дисперсная желатина, молекулярно-дисперсная желатина, декстран, метод светорассеяния, вторые вириальные коэффициенты, термодинамическое свойство, термодинамическая несовместимость.*

Лашко Н.П. ТЕРМОДИНАМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СИСТЕМ ВОДА–ЖЕЛАТИН–НЕІОННИЙ ПОЛІСАХАРИД / Запорізький національний університет, Україна.

За допомогою методу світлорозсіювання одержані термодинамічні характеристики різних типів міжмолекулярних взаємодій у системах вода-желатин-декстран, вода-агрегати желатин-декстран. Показано, що визначальну роль у термодинамічній несумісності желатин із декстраном відіграє взаємодія білка та полісахариду, що характеризується додатним значенням величини другого віриального коефіцієнта  $A_{BP}$ . Термодинамічна спорідненість біополімерів (дуже слабе комплексоутворення) забезпечує повну сумісність желатин із декстраном та характеризується від'ємним значенням величини другого віриального коефіцієнта  $A_{BP}$ . Пригнічення комплексоутворення призводить до термодинамічної несумісності біополімерів, і основний вклад у взаємодію желатин із декстраном в цьому випадку вносить ефект виключеного об'єму, який визначається розмірами макромолекул.

*Ключові слова: колоїдно-дисперсний желатин, молекулярно-дисперсний желатин, декстран, метод світлорозсіювання, другі віриальні коефіцієнти, термодинамічна спорідненість, термодинамічна несумісність.*

Lasko N.P. THERMODYNAMIC PROPERTIES OF SYSTEMS WATER–GELATIN–A NON-IONIC POLYSACCHARIDE / Zaporizhzhya National University, Ukraine

Using the method of light scattering obtained thermodynamic characteristics of different types of intermolecular interactions in water- gelatin – dextran, water – aggregates of gelatin - dextran. It is shown that in determining the value of the thermodynamic incompatibility of gelatin with dextran played by the interaction of protein and polysaccharide, characterized by a positive value of the second virial coefficient of.  $A_{BP}$  The thermodynamic affinity of biopolymers (very weak complexation) provides full compatibility with dextran and gelatin is characterized by a negative value of the second virial coefficient of.  $A_{BP}$  Suppression of the complex leads to thermodynamic incompatibility of biopolymers and the main contribution to the interaction of gelatin with dextran makes the excluded volume that is defined by the size of the macromolecules.

*Key words: colloid- dispersed gelatin molecular- dispersed gelatin, dextran, light scattering method, the second virial coefficients, thermodynamic properties, thermodynamic incompatibility.*

## ВВЕДЕНИЕ

Научно-технические проблемы выделения и переработки белка в новые пищевые продукты выдвигают на первый план задачу изучения поведения белка в водных средах в присутствии других компонентов пищи и, прежде всего, полисахаридов. Структура и свойства систем, содержащих белки и полисахариды, в значительной мере определяются характером взаимодействия этих биополимеров, их совместимостью в растворе [1-2]. Актуальность исследования термодинамической совместимости белков и полисахаридов обусловлена также необходимостью разработки для безотходных технологий новых принципов концентрирования разбавленных растворов и дисперсии белков [3]. Фазовое расслоение (переход из однофазового в двухфазовое состояние) систем вода-белок-полисахарид является одной из главных особенностей такого рода систем и может быть обусловлено двумя типами процессов, первый из которых основан на явлении термодинамической несовместимости белков и полисахаридов, а второй – на образовании нерастворимых белково-полисахаридных комплексов. Необходимость знаний термодинамических параметров взаимодействий белков и полисахаридов дает возможность теоретического моделирования поведения и структуры их смешанных систем [4], а также позволяет разрабатывать новые принципы создания сложных многокомпонентных пищевых систем. В связи с этим представлялось актуальным изучить термодинамические свойства систем вода-белок-полисахарид на примере желатины, широко используемой в пищевой промышленности, и неонного полисахарида – декстрана. Цель работы – изучить термодинамические свойства систем вода-желатина-декстран путем получения термодинамических характеристик различных типов межмолекулярных взаимодействий в бинарных (вода–желатина, вода–агрегаты желатины, вода–декстран) и тройных (вода–желатина–декстран, вода–агрегаты желатины–декстран) системах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали фотожелатину, которую подвергали дополнительной очистке по Лёбу [5], 17%-й гель желатины, содержащий следы азидата натрия, хранили при +4 °С. Для проведения экспериментов готовили растворы желатины в молекулярно-дисперсном и коллоидно-дисперсном состоянии. Для получения раствора желатины в молекулярно-дисперсном состоянии навеску геля растворяли в нагретом до +40 °С фосфатном буфере с требуемыми значениями рН и ионной силы и выдерживали при этой температуре перед началом эксперимента в течение 60 минут. Далее полученный раствор центрифугировали при 50 000д в течение 90 минут. В течение эксперимента поддерживалась постоянная температура +40 °С. Для получения желатины в коллоидно-дисперсном (агрегированном) состоянии использовали стандартный метод охлаждения растворов желатины, описанный в [6]. Формирование агрегатов в исходном 0,7% растворе желатины сопровождалось образованием частиц с высокой агрегативной устойчивостью. В работе использованы препараты декстрана производства «Pharmacia» (Швеция) с молекулярной массой  $M_w=2000$ кД без дополнительной очистки. Инкременты показателя преломления

определяли на дифференциальном рефрактометре «ShimadzuDR-4B» (Япония) при длине волны 436 нм.

Перед измерением светорассеяния проводили обеспыливание растворов желатины и полисахарида, а также буфера. Обеспыливание проводили фильтрованием через мембранные поливинилхлоридные фильтры с диаметром пор либо 0,45 мкм, либо 0,2 мкм фирмы «Sartorius» (Франция) в кювету, предварительно обеспыленную в токе сконденсированного ацетона [7]. Асимметрия рассеяния света буфером после обеспыливания была равна 1,05.

Измерение светорассеяния проводили на нефелометре ФПС-3М, в интервале углов от 0 до 150° с интервалом в 10° при длине волны неполяризованного света 436 нм. Релеевскую постоянную ( $R_0=90$ ) обеспыленного бензола для калибровки эталона прибора принимали равной  $47,4 \cdot 10^{-6} \text{ см}^{-1}$  [8]. При расчете коэффициента рассеяния использовали поправки на показатель преломления  $N_{\text{H}_2\text{O}} / N_{\text{бензола}} = 0,785$  на рассеивающий объем  $\sin^2 \Theta^{-1}$ .

Измерения проводили в специальных кюветках, поглощающих на выходе основной пучок света и устраняющих его отражение. Избыточное рассеяние вычисляли для каждого угла непосредственно по разности величины рассеянного света для раствора биополимеров и буфера.

Результаты изменений обрабатывали методом двойной экстраполяции по Зимму [9].

Составляющую второго вириального коэффициента (далее второй вириальный коэффициент), характеризующую взаимодействие макромолекул желатины и полисахарида ( $A_{\text{БП}}$ ), и биополимеров с растворителем ( $A_{\text{ПР}}$ ;  $A_{\text{БР}}$ ), определяли, разбавляя растворы отдельных биополимером или их смесь растворителем (буфером). Смеси биополимеров исследовали с эквимассовым соотношением компонентов. Выбор эквимассового соотношения полимеров в смеси обусловлен рекомендациями работы [10] для достижения наивысшей точности в определении  $A_{\text{БП}}$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Выяснение природы явления термодинамической совместимости желатины с неионными полисахаридами связано с необходимостью оценки вкладов различных взаимодействий желатины и полисахаридов в свободную энергию смешения (Гиббса). Термодинамические и молекулярные характеристики исследуемых систем даны в таблице 1. При pH 3,5 в условиях низкой ионной силы, когда система однофазна, т.е. биополимеры совместимы, второй вириальный коэффициент  $A_{\text{БП}}$ , характеризующий взаимодействие белка и полисахарида, имеет отрицательное значение. При повышении ионной силы от 0,01 до 0,5, когда система претерпевает переход от однофазного состояния в двухфазное, второй вириальный коэффициент  $A_{\text{БП}}$  становится положительным, т.е. происходит переход от термодинамически благоприятных к термодинамически неблагоприятным взаимодействиям.

В окрестности изоэлектрической точки белка (ИЭТ) система вода-желатина-декстран двухфазна как при высокой, так и при низкой ионной силе. Взаимодействие белка и полисахарида при этом характеризуется положительной величиной  $A_{\text{БП}}$ . Отличительной особенностью этой области pH является существование в растворе смеси биополимеров ассоциатов молекул желатины в условиях низкой ионной силы, причем ассоциаты желатины характеризуются большим сродством к растворителю, чем мономолекулярная желатина.

При повышении ионной силы от 0,01 до 0,5 в соответствии с увеличением области двухфазного состояния смеси растет положительная величина второго вириального коэффициента  $A_{\text{БП}}$ , т.е. усиливается термодинамические неблагоприятные взаимодействия

биополимеров. Самоассоциация желатины в условиях высокой ионной силы подавляется. Различия в сродстве биополимеров к растворителю практически остается на одном и том же уровне, как при смещении рН к ИЭТ, так и при возрастании ионной силы. При этом сравнение моляльных вторых вириальных коэффициентов говорит о значительно большем сродстве к растворителю декстрана, чем желатины.

Результаты исследования позволяют предположить, что главной причиной фазового расслоения в растворах смесей изученных пар биополимеров являются термодинамически неблагоприятные взаимодействия белка и полисахарида, выражающиеся в положительной величине второго вириального коэффициента АБП при термодинамической несовместимости биополимеров. В соответствии с этим, в условиях термодинамического сродства биополимеров, характеризующегося отрицательным значением АБП, белок и полисахарид совместимы во всем изученном диапазоне концентраций. При этом оказывается, что достаточно высокое различие моляльных вторых вириальных коэффициентов ( $A_{БР} - A_{ПР}$ )  $\sim 102$ , характеризующих термодинамическое сродство к растворителю белка и полисахаридов, по-видимому, играет в фазовом расслоении растворов смесей изученных пар биополимеров лишь второстепенную роль. Это подтверждается тем фактом, что наблюдаемые различия в сродстве биополимеров к растворителю в условиях термодинамического сродства биополимеров ( $A_{БП} < 0$ ; рН 3,5;  $I = 0,01$ ) не приводят к фазовому расслоению системы.

Таблица 1-Термодинамические и молекулярные свойства систем вода-желатина-декстран (В-Ж-Д) и вода-агрегаты желатины-декстран (В-АЖ-Д)

Система	Условия эксперимента			Молекулярная масса, (M <sub>w</sub> , кД)		A <sub>БР</sub> × 10 <sup>-4</sup>	A <sub>ПР</sub> × 10 <sup>-4</sup>	A <sub>БП</sub> × 10 <sup>-4</sup>	Фазовое состояние системы
	T°С	рН	I	Б	П	см <sup>3</sup> × моль <sup>-1</sup>	см <sup>3</sup> × моль <sup>-1</sup>	см <sup>3</sup> × моль <sup>-1</sup>	
В-Ж-Д	40	3,5	0,01	83,0±8,0	2000±200	0,4±0,1	112,0±22,0	-8,6±2,6	однофазная
			0,5	64,0±6,0	2000±200	0,5±0,1	149,0±45,0	23,3±7,0	двухфазная
В-Ж-Д	40	ИЭТ	0,01	178,0±18,0	2000±200	1,4±0,3	96,0±20,0	20,1±0,6	двухфазная
			0,5	70,0±7,0	2000±200	0,8±0,2	132±26,0	33,1±10,0	двухфазная
В-АЖ-Д	18	3,5	0,01	2500±250	2000±200	1340000±26800	112±22,0	-424±13,0	однофазная
			0,5	1900±190	2000±200	850±17,0	149±45,0	15,4±7,0	двухфазная

В условиях термодинамической несовместимости биополимеров роль различия в термодинамическом сродстве к растворителю белка и полисахарида, по-видимому, сводится к перераспределению молекул растворителя между молекулами биополимеров.

О природе термодинамической несовместимости желатины с нейтральными полисахаридами можно судить, сопоставляя влияние молекулярной массы биополимера, ионной силы и температуры на фазовые равновесия и величину А<sub>БП</sub>. Значительное влияние молекулярной массы желатины на фазовое равновесие свидетельствует, по-видимому, о большой роли размера макромолекул

в термодинамической несовместимости. Следовательно, можно предположить, что стерические, чисто энтропийные факторы являются одними из важнейших в термодинамической несовместимости биополимеров.

Переход от области термодинамической несовместимости биополимеров к их термодинамической совместимости при уменьшении ионной силы в области рН ниже ИЭТ белка, по-видимому, свидетельствует об электростатической природе специфического сродства между биополимерами. Это предположение подтверждается максимальной величиной  $A_{БП}$  при высоком значении ионной силы в окрестности ИЭТ белка, т.е. в условиях, когда электростатические взаимодействия между белком и полисахаридом подавлены. По данным седиментационного анализа, образования гидродинамически стабильного комплекса между белком и полисахаридом в условиях их термодинамической совместимости не наблюдаются. По-видимому, желатина и нейтральные полисахариды термодинамически совместимы вследствие образования растворимых короткоживущих комплексов белок-полисахарид. Связывание может происходить в результате взаимодействия положительно заряженных макроионов желатины с отрицательно заряженными кислотными группами, присутствующими даже в очищенном фирменном препарате декстрана.

Таким образом, определяющее значение в термодинамической несовместимости желатины с неионными полисахаридами играет взаимодействие белка и полисахарида. Термодинамическое сродство биополимеров (очень слабое комплексообразование) обеспечивает полную совместимость желатины и неионных полисахаридов при высоких концентрациях. Подавление комплексообразования приводит к термодинамической несовместимости биополимеров. В этом случае основной вклад во взаимодействие белка и полисахарида вносит эффект исключенного объема, который, главным образом, определяется размерами макромолекул.

### ВЫВОДЫ

1. В условиях низкой ионной силы и  $pH < ИЭТ$  желатины системы вода–желатина–неионный полисахарид однофазны и взаимодействие белка и полисахарида характеризуется отрицательной величиной  $A_{БП}$ .
2. С повышением ионной силы от 0,1 до 0,5 (NaCl) системы вода–желатина–неионный полисахарид претерпевают переход из однофазного в двухфазовое состояние, и взаимодействие белка и полисахарида характеризуется положительной величиной  $A_{БП}$ .
3. В окрестностях ИЭТ системы вода–желатина–неионный полисахарид двухфазны как при низкой, так и при высокой ионной силе. Взаимодействие белка и полисахарида характеризуется положительной величиной  $A_{БП}$ , которая растет с повышением ионной силы среды.

Перспектива дальнейших исследований – изучение поведения белка в водных средах в присутствии других компонентов пищи с целью разработки новых принципов создания сложных многокомпонентных пищевых систем.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Chandler D. Interfaces and the driving force of hydrophobic assembly / D. Chandler // Nature. – 2005. – V. 47. – P. 640-647.
2. Nakai S. Structure-function relationships of food proteins with an emphasis on the importance of protein hydrophobicity / S. Nakai // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 1983. – V. 31 – P. 676-683.

3. Kato A. Hydrophobicity determined by a fluorescent probe method and its correlation with surface properties of proteins / A. Kato // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1980. – V. 624 – P. 13-20.
4. Effect of the structural features of pectins and alginates on their thermodynamic compatibility with gelatin in aqueous media / [Antonov Yu.A., Lashko N.P., Glotova Yu.K., at al.] // *Food hydrocolloids*. – 1996. – V.10. – №1. – P.1 – 9.
5. Лёб Ж. Белки и теория коллоидных явлений/ Ж. Лёб. – М.: Гизлегпром, 1972. – 1982. – 270 с.
6. Boedtker H. A study of gelatin molecules, aggregate and gels / H.Boedtker, P.Doty // *Journal Physic Chemistry*, – 1974. – V.58. – №11. – P. 968 – 974.
7. Stark W. Effect of surface contamination on the charge decay of EEP electrets / W.Stark // *Acta Polymer*. – 1982. – V. 33. – P. 9 – 13.
8. Эскин В. Е. Рассеяние света растворами полимеров / Владимир Евгеньевич Эскин. – М.: Наука, 1993. – 350 с.
9. Zimm B.H. The scattering of light and the radial distribution function of high-polymer solutions / B.H.Zimm // *Journal Chemistry Physic*. – 1968. – V.16. – P. 1093 – 1099.
10. Wells I.D. The transformation of virial equations for polymer solution between different concentration scales / I.D.Wells // *Chemical Science*. – 1984. – V.23. – №4. – P. 202-204.

УДК 54.01:637.131.8

## ВПЛИВ ХІМІЧНИХ ДОМІШОК НА ОПТИЧНІ ТА САНІТАРНО-ГІГІЄНІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МОЛОКА

Омельянчик Л.О., проф., д. фарм. н., Синяева Н.П., к.х.н., ст. викладач,  
Сорочинська Т.С., студент

*Запорізький національний університет*

Досліджено зміну абсорбції незбираного та фальсифікованого молока хімічними домішками: водою, натрій гідрокарбонатом у видимій та ультрафіолетовій області спектру. Уточнена форма кривої поглинання незбираного та фальсифікованого молока в ультрафіолетовій області спектру. Фальсифікація молока підтверджена виміром показника заломлення та мікроскопічним методом. За допомогою експрес-тесту  $\beta$ -lactams + Tetracyclines в окремих пробах незбираного молока виявлено  $\beta$ -Lactam.

*Ключові слова:* незбиране молоко, фальсифіковане молоко, мікроскопічний та рефрактометричний метод, спектрофотометрія, видима та ультрафіолетова область спектру, експрес-тест  $\beta$ -lactams + Tetracyclines, абсорбція.

Омельянчик Л.А., Синяева Н.П., Сорочинская Т.С. ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ДОБАВОК НА ОПТИЧЕСКИЕ И САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОЛОКА / Запорожский национальный университет, Украина.

Исследовано изменение абсорбции цельного и фальсифицированного молока химическими добавками: водой, натрий гидрокарбонатом в видимой и ультрафиолетовой области спектра. Уточнена форма кривой поглощения цельного и фальсифицированного молока в ультрафиолетовой области спектра. Фальсификация молока подтверждена измерением показателя преломления и микроскопическим методом. С помощью экспрес-теста  $\beta$ -lactams + Tetracyclines в отдельных пробах цельного молока обнаружено  $\beta$ -Lactam.

*Ключевые слова:* цельное молоко, фальсифицированное молоко, микроскопический и рефрактометрический метод, спектрофотометрия, видимая и ультрафиолетовая область спектра, экспрес-тест  $\beta$ -lactams + Tetracyclines, абсорбция.