

### КОМПЛЕКСНЕ ВИКОРИСТАННЯ БУЛЬБ ТОПІНАМБУРА (*HELIANTHUS TUBEROSUS* L.): ОЧИЩЕННЯ ІНУЛІНУ, ФРУКТОЗИ ТА МАНОЗОСПЕЦИФІЧНОГО ЛЕКТИНУ

**Ключові слова:** інулін, фруктоза, манозоспецифічний лектин, очистка, властивості

Топінамбур (*Helianthus tuberosus* L.) – рослина, яка має харчову, кормову та лікувальну цінність. У сільському господарстві використовують як надземну, так і підземну частини рослини. У медицині знайшли застосування бульби, які містять до 25% сухих речовин, серед яких, згідно з даними літератури, основну масу становить полісахарид інулін, вміст якого може сягати до 80% від маси сухих речовин. Також знайдено пектини (до 11%), та до 3,2% речовин білкової природи [1]. Серед них ідентифіковано ферменти інуліназа ( $\beta$ -фруктофуранозидаза) [5], поліфенолоксидаза [6], та манозоспецифічний лектин [4]. До інших корисних речовин відносять фруктозу, амінокислоти, мікроелементи, вітаміни, органічні кислоти, фенольні сполуки [1].

Інулін є хорошим дієтичним продуктом та лікувально-профілактичним препаратом для хворих на цукровий діабет. Він легко розпадається до фруктози, засвоєння якої значно меншою мірою залежить від гормона підшлункової залози інсуліну, ніж засвоєння глюкози [2].

Відомі технології очищення інуліну, як правило, приводять до втрати всіх інших цінних речовин. Хоча останнім часом розробляють методики комплексного використання цієї сировини. Наприклад, в Росії розроблено інулін-пектиновий концентрат «пектоїнулін», який має детоксикуючу дію і, як вважають автори, не лише посилює гіпоглікемічну дію, але зменшує розвиток діабетичних ускладнень [3].

Під час одержання інуліну білкові речовини втрачаються, перш за все через їх чутливість до високої температури та змін рН. І навпаки, вважають, що під час одержання білкових речовин через низьку розчинність інуліну в холодній воді його можна екстрагувати у невеликій кількості.

Лектин топінамбура є дуже високовартісною речовиною через його низький вміст у сировині, але ціна його очищення може бути зниженою у разі комплексного використання сировини.

**Метою** цієї роботи було розроблення суміщеної технології одержання інуліну, фруктози та манозоспецифічного лектину з бульб топінамбура та оцінювання доцільності подібного використання цієї сировини.

#### Матеріали та методи дослідження

Бульби топінамбура заготовляли на присадибній ділянці у Львівській області у кінці листопада, через 30–45 днів після закінчення вегетації рослини. При необхідності короткотривалого зберігання (1–3 тижні) бульби вміщували в холодильник за +4 °С.

*Екстракція сировини та очищення інуліну і фруктози.* Екстракцію бульб топінамбура здійснювали в побутовому електроміксері. З цією метою 1,0 кг бульб подрібнювали до частинок  $d < 1$  см, вміщували в електроміксер, заливали 1,0 л розчину, що містив 0,1%

ацетатної кислоти і 0,3% тіосечовини. Рідину з одержаного гомогенату відтискали через марлю, освітлювали центрифугуванням (1 500 g) упродовж 10 хв. Після цього рН супернатанта доводили до рН 4,5 ацетатною кислотою, утворений осад видаляли центрифугуванням (1 500 g) протягом 10 хв і рідину наносили на колонку КМ-сефадексу, врівноважену 0,1%-ю ацетатною кислотою, рН 4,5. Майже весь коричневий пігмент залишався на колонці. Після проходження всієї кількості екстракту колонку промивали 0,1%-ю ацетатною кислотою, рН 4,5, до тих пір, поки  $A_{280} < 0,1$ .

Вичавки екстрагували гарячою водою (1:3) на киплячій водяній бані за безперервного перемішування протягом 1 год. Ще теплу суміш видушували на пресі, екстракт фільтрували або центрифугували і після охолодження до кімнатної температури об'єднували з попереднім екстрактом, що пройшов через колонку КМ-сефадексу. До об'єданого екстракту додавали насичений розчин гідроксиду барію до рН 8,0–8,6. Осад, що утворювався, видаляли центрифугуванням протягом 10 хв за 1 500 g. Рідину нейтралізували 3%-м розчином сульфатної кислоти до рН 5,0–6,0 і вміщували на 3–5 год в холодильник (+4 °C). Утворений осад сульфату барію видаляли центрифугуванням за попередніх умов.

Цей розчин наносили на колонку катіоніту Dawex 50x2 об'ємом 50 мл у  $H^+$ -формі. Після проходження розчину через колонку фракції, що містили вуглеводи, об'єднували і зразу ж наносили на колонку аніоніту Dawex 1 в  $OH^-$ -формі. Рідину, що витікала з колонки, аналізували на наявність фруктози, фракції, що її містили, об'єднували і перевіряли рН. У разі необхідності його коректували до рН 6,0–8,0. Цей розчин упарювали в сушильній шафі при +60 °C до  $\frac{1}{4}$  початкового об'єму. Інулін із підпареного розчину осаджували двома об'ємами 96%-го етанолу. Осад розчиняли в гарячій воді, нерозчинений залишок видаляли центрифугуванням і знову осаджували двома об'ємами 96%-го етанолу. Утворений осад промивали 96%-м етанолом, ацетоном, диетиловим ефіром і висушували на повітрі. Майже білий порошок розчиняли у гарячій воді до утворення 10%-го розчину і ставили на кристалізацію в холодильник (+4 °C). Через дві доби осад відділяли центрифугуванням, промивали 96%-м етанолом, висушували і зважували.

З надосадової рідини етанол відганяли, водний залишок фільтрували і воду видаляли випаровуванням в сушильній шафі при +65 °C до утворення густої маси.

Основну кількість цієї маси використовували для одержання фруктози, а невелику кількість – для аналізу олігосахаридного складу.

Для кристалізації фруктози до цієї густої маси на кожні 10 г додавали  $\approx 120$  мл нагрітого до +60–70 °C ізопропанолу, який містив 1% льодяної ацетатної кислоти, до повного розчинення цієї маси, після цього суміш ставили в холодильник на кристалізацію. Під час охолодження випадали кристали фруктози, які промивали холодним ізопропанолом, висушували і зважували.

*Очистка лектину.* Манозоспецифічний лектин очищували з матеріалу, що сорбувався на КМ-сефадексі при рН 4,5 з екстракту бульб топінамбура (див. нижче). З цією метою колонку КМ-сефадексу після пропускання екстракту, підкисленого до рН 4,5, відмивали від неадсорбованих речовин 0,1%-м розчином ацетатної кислоти. Адсорбовані на аніонообміннику білкові речовини елюювали 0,3 М натрій ацетатом (рН 6,5). Контроль елюції здійснювали за поглинанням елюату на спектрофотометрі при 280 нм. Фракції, що мали значення екстинції  $A_{280} > 0,4$  об'єднували і висолювали амоній сульфатом (600 г/л). Утворений осад відфільтровували і розчиняли у воді (1:10) і ставили на діаліз проти 0,05 М фосфатного буферного розчину (рН 7,0), що містив 0,5 М NaCl. Подальшу очистку лектину здійснювали афінною хроматографією на колонці співполімеру крохмалю з дріжджовим мананом [7]. З цією метою колонку

( $V = 100$  мл) урівнювали цим самим буферним розчином і наносили віддіалізований розчин лектину. Після проходження нанесеного розчину через колонку її промивали буферним розчином до тих пір, поки  $A_{280} < 0,1$ . Адсорбований на колонці лектин знімали 2%-м розчином D-манози, розчиненої у 0,05 М розчині калію борату (рН 8,6). Контроль елюції здійснювали за поглинанням елюату на спектрофотометрі при 280 нм. Фракції, що мали значення екстинції  $A_{280} > 0,4$ , об'єднували і висолювали амоній сульфатом (600 г/л). Подальше очищення лектину здійснювали іонообмінною хроматографією. Для цього розчин лектину діалізували проти 0,05 М фосфатного буферу рН 7,0 і наносили на колонку DEAE-тоуорearl, попередньо врівноважену цим буфером. Лектин із колонки знімали 0,18 М фосфатним буфером рН 7,0. Пігментні речовини затримувались у цих умовах у верхній частині колонки. Очищений лектин висолювали сульфатом амонію, діалізували проти води і цей розчин використовували для дослідження фізико-хімічних характеристик та вуглеводної специфічності. Для тривалого зберігання його заморожували при  $-20$  °С.

*Методи аналізу фруктози, інуліну та лектину в процесі очищення.* Кількісне визначення фруктози та фруктозовмісних вуглеводів у розчинах здійснювали за допомогою реакції з резорцином і соляною кислотою [8]. До 0,7 мл проби, що містили 5–250 мкг/мл фруктози додавали 0,7 мл 0,1%-го розчину резорцину на 96°-му етанолі і 0,7 мл 36%-ї хлоридної кислоти. Суміш перемішували і нагрівали на водяній бані 8 хв при  $+80$  °С. Забарвлення, що виникало, вимірювали на спектрофотометрі при 486 нм. За побудованим калібрувальним графіком визначали вміст фруктози у пробах.

Іншим використаним у роботі методом визначення фруктози у пробах була реакція з L-цистеїном та сульфатною кислотою [13]. До 0,2 мл проби додавали 0,1 мл 10%-го цистеїну і 2,5 мл 75%-ї сульфатної кислоти (по об'єму). Суміш добре перемішували і залишали на 3 год за кімнатної температури. Жовте забарвлення, що при цьому розвивалося, вимірювали при 412 нм. За побудованим калібрувальним графіком визначали вміст фруктози у пробах.

Кількість глюкози у екстрактах визначали глюкозооксидазним методом, застосовуючи як хромоген суміш 4-аміноантипірину та фенолу. Ензимо-хромогенний реактив виготовляли, розчиняючи в 0,1 М ацетатному буферному розчині, рН 6,0, 4,6 мг глюкозооксидази та 2,8 мг пероксидази кореня хрону ( $RZ = 0,67$ ), а також 14 мг 4-аміноантипірину та добавляли 2 мл 5%-го розчину фенолу. Після розчинення всіх компонентів об'єм розчину доводили до 200 мл 0,1 М ацетатним буфером. 1 мл досліджуваного розчину змішували з 3 мл ензимо-хромогенного реактиву і через 30 хв інтенсивність червоного забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ-16 при 510 нм. Калібрувальний графік будували по глюкозі.

Контроль чистоти одержаної фруктози та інуліну виконували методом хроматографії на папері в системі розчинників н-бутанол–ацетатна кислота–вода 4:1:2. Хроматограми оприскували розчином сечовини [14], та в іншому випадку резорциновим реактивом, після чого обидві хроматограми протягом 15 хв витримували при  $+80$  °С. У місці знаходження фруктози або інуліну спостерігали появу відповідно голубих (у разі оприскування сечовиною) або вишневого (у разі оприскування резорцином) кольору плям.

Розділення та аналіз олігосахаридів здійснювали гель-хроматографією на сефадексі G-15. На колонку ( $h = 380$  мм,  $d = 14$  мм), заповнену сефадексом G-15, урівноважену 0,02 М фосфатним буфером, рН 7,0, наносили 0,5 мл 1%-го розчину екстракту топінамбура, очищеного іонообмінною хроматографією та звільненого від інуліну осадженням етанолом. Колонку промивали цим самим буферним розчином.

Збирали фракції об'ємом 1,0 мл. Виявлення олігосахаридів у фракціях здійснювали резорциновим методом (див. нижче). Визначення вільного об'єму колонки робили шляхом пропускання 1%-го розчину голубого декстрану (М. м. = 2 000 кДа). Через цю саму колонку для її калібрування пропускали 1%-ні розчини D-фруктози (М. м. = 180 Да), сахарози [DGlcP(α1-4)Fruf] (М. м. = 342 Да) та рафінози [DGal(α1-6)Glc(β1-2)DFruf] (М. м. = 504 Да). Визначали об'єми елюції цих речовин та порівнювали з об'ємами елюції речовин екстракту топінамбіра.

Чистоту одержаного лектину та молекулярну масу його субодиниць визначали за допомогою електрофорезу в 20%-му поліакриламідному гелі в присутності 0,1%-го розчину додецилсульфату натрію. Як стандарт використовували суміш білків з відомою молекулярною масою фірми «Fermentas» (Литва).

Вуглеводну специфічність одержаного лектину визначали в реакції пригнічення гемаглютинації еритроцитів кролика вуглеводами і глікопротеїнами. За допомогою ступінчастого розведення вуглевода чи глікопротеїна визначали його мінімальну концентрацію, за присутності якого повністю пригнічувалась активність лектину з титром 1:4 [9].

Для характеристики вуглеводної специфічності лектину використовували: D-глюкозу, D-фруктозу, D-галактозу, сахарозу, мальтозу, лактозу (Союзхимреактив), рафінозу (Fluka, Швейцарія), α- і β-метил-D-галактозиди, L-рамнозу, N-ацетил-D-галактозамін та N-ацетил-D-глюкозамін (Chemapol, Чехія), D-манозу, D-туранозу, L-рибозу (виробництва Братиславського хімічного інституту), мелібіозу, α-метил-D-манозид, L-фукозу (Koch Light, Великобританія). Для вивчення взаємодії з глікопротеїнами та полісахаридами використовували водорозчинний крохмаль, глікоген печінки свині, овомукоїд та тричі перекристалізований овальбумін (Biolar, Олайн, Латвія), лужну фосфатазу з кишечника теляти (Serva, Німеччина), очищений дріжджовий манан [10] і тиреоглобулін бика [11].

### Результати дослідження та обговорення

У разі висушування 100 г сирих бульб топінамбура у сушильній шафі при +75 °С до постійної ваги було одержано 24,4 ± 0,4 г сухих бульб (результат трьох визначень).

Під час очищення інуліну та фруктози на кожній стадії відбирали аліквоту, яку висушували та аналізували. Це дало змогу встановити, що перша екстракція вилучає основну масу речовин із сировини. Зокрема було виявлено, що холодна вода, як перший екстрагент, вилучає у шість разів більше речовин, ніж гаряча вода як наступний екстрагент (табл. 1). З цього можна зробити висновок, що повторну екстракцію гарячою водою слід робити мінімальною її кількістю, адже великі об'єми необхідно концентрувати, що потребує додаткових часових та енергетичних затрат.

Т а б л и ц я 1

### Ступінь вилучення екстрактивних речовин із бульб топінамбура холодною і гарячою водою

Спосіб одержання екстракту	Екстраговані речовини, % від маси сухої сировини	Аналіз одержаних екстрактивних речовин	
		% речовин, що не розчинялись у воді*	% речовин, що осаджувались етанолом*
Екстракція холодною водою	15,75%	2,67%	1,58%
Екстракція гарячою водою	2,4%	4,15%	8,71%
Об'єднаний екстракт (після осадження пектинових речовин)	15,9%	1,65%	2,84%

П р и м і т к а: \* – обчислено, взявши за 100% всю масу екстрактивних речовин.

Відомо, що інулін погано розчинний у холодній воді і добре розчинний у гарячій, на чому оснований метод очищення його з бульб жоржин [12]. Для успішної кристалізації інуліну при охолодженні води його концентрація у розчині повинна становити не менше, ніж 5%. Нам же викристалізувати інулін безпосередньо з екстракту не вдалось через загальний низький вміст полісахаридів (колонка 3, табл. 1). Очевидно, що вміст інуліну в бульбах після закінчення вегетації швидко знижується, і навіть за умов зберігання бульб топінамбура у ґрунті через місяць він уже незначний. Про це свідчить також низка дослідників [15]. Тому легше одержати інулін, осаджуючи його двома об'ємами етанолу, попередньо очистивши екстракт від пігментних речовин іонообмінною хроматографією та підконцентрувавши його випаровуванням за температури не вище +70 °С при рН, близькому до нейтрального.

Основну масу екстрактивних речовин становлять сполуки, що не осаджуються двома об'ємами етанолу. Вони становлять  $\approx 95\%$  від речовин холодної екстракції і  $\approx 87\%$  від речовин гарячої екстракції. Найбільше серед них є вуглеводів, зокрема D-фруктози або її олігосахаридів. Вміст фруктози в екстрактах можна визначити за реакцією з резорцином і хлоридною кислотою, або за реакцією з L-цистеїном та сульфатною кислотою [13]. Ці реакції є достатньо специфічні для D-фруктози, екстинція D-глюкози за умов проведення цих реакцій у контрольних дослідах, виконаних нами, становила лише  $\approx 1\%$  від екстинції D-фруктози. У разі визначення глюкози глюкозооксидазним методом визначалась лише D-глюкоза, в той час як D-фруктоза за цією реакцією не виявлялась.

Таким чином, згідно з даними колориметричного визначення обома методами, після очищення іонообмінною хроматографією сухі речовини водного екстракту бульб топінамбура більше, ніж на 90% складалися з D-фруктози.

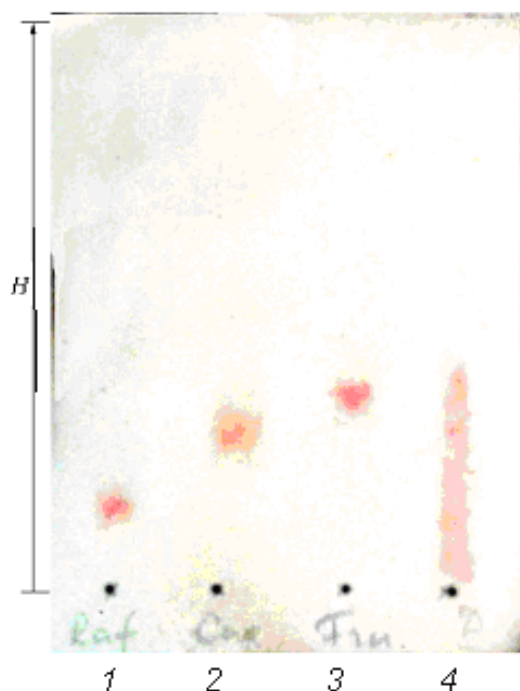
Однак, у разі здійснення хроматографії на папері, екстракт, очищений іонообмінною хроматографією та звільнений від інуліну, давав розтягнуту пляму (рис. 1), в той час як чиста D-фруктоза та фруктозовмісні олігосахариди (сахароза і рафіноза) давали цілком чіткі і компактні плями.

Т а б л и ц я 2

**Вміст фруктози в екстрактах з бульб топінамбура**

Спосіб одержання екстракту	Вміст фруктози в екстракті, %*	Вміст фруктози в екстракті, %**	Вміст глюкози в екстракті, %***
Об'єднаний екстракт (після осадження пектинових речовин)	$64 \pm 2,2\%$	$67 \pm 1,5\%$	$4,7 \pm 1,8\%$
Об'єднаний екстракт після очищення іонообмінною хроматографією та осадження інуліну етанолом	$92,5 \pm 2,2\%$	$91,3 \pm 1,4\%$	$6,4 \pm 1,5\%$

П р и м і т к а: \* – дані, одержані з використанням реакції резорцин–хлоридна кислота; \*\* – дані, одержані з використанням реакції L-цистеїн–сульфатна кислота; \*\*\* – дані, одержані з використанням глюкозооксидазного методу.



**Рис. 1. Хроматограма на папері очищеного екстракту бульб топінамбура та фруктозовмісних олігосахаридів.**

Система: н-бутанол–ацетатна кислота–вода 4:1:2; проявлення: 0,1%-й водний резорцин–36%-на НСІ 1:1, нагрівання 10 хв при +80 °С. Цифрами позначено нанесення 15 мкл 1%-х розчинів: 1 – рафінози, 2 – сахарози, 3 – D-фруктози, 4 – очищеного екстракту топінамбура, *H* – відстань, яку пройшов фронт розчинника

Аналіз подібної хроматограми дає можливість висловити припущення, що очищений екстракт топінамбура, скоріш за все, містить суміш фруктозовмісних олігосахаридів.

Для перевірки цього припущення ми вирішили розділити цю суміш гель-хроматографією на сефадексі G-15. На колонку, заповнену сефадексом G-15 (див. Матеріали та методи), було нанесено очищений іонообмінною хроматографією екстракт топінамбура (після осадження інуліну двома об'ємами етанолу). Графік елюції наведено на рис. 2. Зважаючи на трохи малу висоту колонки, повного розділення олігосахаридів не відбулось, але спостерігається наявність щонайменше трьох фракцій. Фракція екстракту топінамбура, що вийшла з колонки об'ємом 3–9 мл, складається з олігосахаридів, що мають молекулярну масу понад 1 000 Да, а це не менше, ніж 6 вуглеводних залишків; фракція, що вийшла з об'ємом 12–16 мл, може містити ди- і трисахаридні залишки; а фракція, що вийшла з об'ємом 17–19 мл, може містити глюкозу і фруктозу.

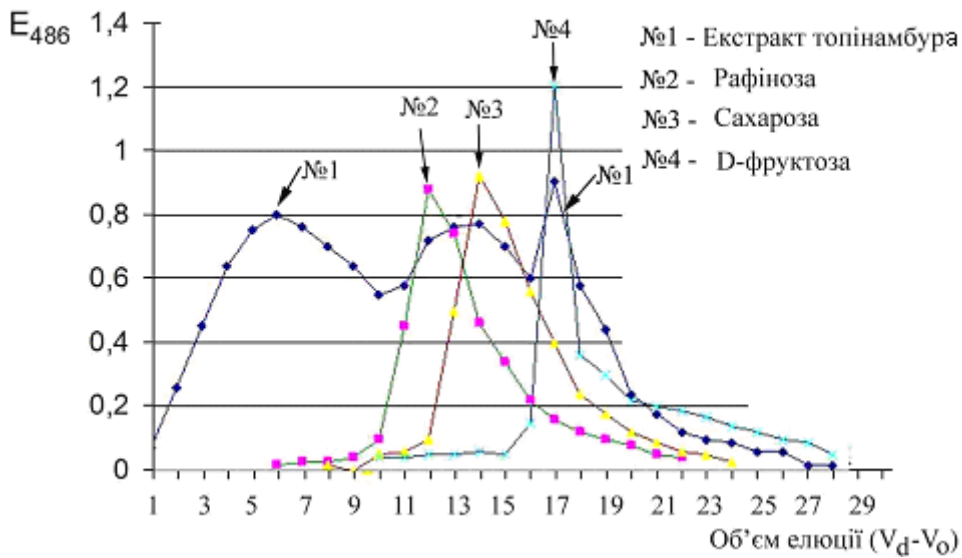


Рис. 2. Графік елюції очищеного екстракту топінамбура та вуглеводів-маркерів на колонці сефадексу G-15

Після очищення екстракту іонообмінною хроматографією від пігментних речовин фруктозу з об'єднаного екстракту можна викристалізувати шляхом гідролізу олігосахаридів, згущення до сиропу, екстракцією гарячим ізопропанолом або абсолютним етанолом і кристалізацією фруктози на холод.

Викристалізовану фруктозу перевіряли на чистоту хроматографією на папері та шляхом визначення температури плавлення (+103 °C).

Але фруктозу дуже важко кількісно одержати у кристалічному стані, тому значно доцільніше і дешевше її використовувати у вигляді фруктозних сиропів, про що пишуть також інші дослідники [16].

Манозоспецифічний лектин, очищений з матеріалу, що сорбувався на КМ-сефадексі, представляє інтерес як реагент для гістохімічних досліджень. Цей лектин був вперше очищений і охарактеризований в 1999 р. групою зарубіжних дослідників [17]. Нами запропоновано дещо інший метод його очищення з використанням афінного сорбенту, одержаного шляхом співполімеризації дріжджового манану та крохмалю [7]. Це дає можливість значно спростити та здешевити процедуру очищення цього лектину.

Лектин витримує прогрівання при +60 °C упродовж 1 год, але за 15 хв при +72 °C спостерігалось 75% втрати активності лектину. Під час діалізу проти 1%-го розчину динатрієвої солі ЕДТА протягом 8 год лектин не втрачав гемаглютинуючої активності, це свідчить, що іони металів (Ca<sup>2+</sup> і Mg<sup>2+</sup>) не є необхідними для прояву його активності.

Електрофорез, виконаний у 20%-му поліакриламідному гелі в присутності 0,1% додецилсульфату натрію свідчить, що одержаний препарат є достатньо чистим для подальших досліджень. При цьому виявлено одну зону, яка відповідає мол. масі 15 кДа (рис. 3).

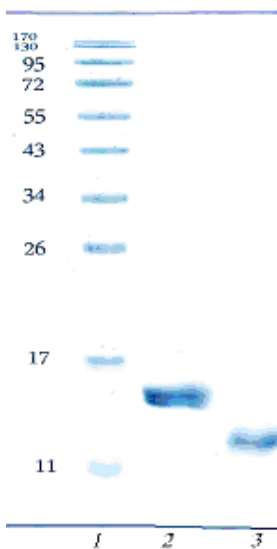


Рис. 3. Електрофореграма лектину топінамбура в 20%-му поліакриламідному гелі в денатуруючих умовах:

1 – білки-маркери та їхня молекулярна маса; 2 – лектин бульб топінамбура;  
3 – лектин підсніжника

Одержаний лектин найкраще аглютинував еритроцити мурчака, дещо слабше еритроцити кролика, а еритроцити щура і людини аглютинувались лише у дуже високій концентрації.

Результати дослідження вуглеводної специфічності лектину подано в табл. 3

Т а б л и ц я 3

**Результати дослідження взаємодії лектину бульб топінамбура з вуглеводами та глікокон'югатами**

Вуглевод або глікопротеїн	Мінімальна концентрація вуглеводу, що пригнічує активність 4 гемаглютинуючих одиниць лектину
$\alpha$ -Метил-D-Манопіранозид	0,78 мМ
D-Маноза	1,56 мМ
D-Тураноза [DGlc( $\alpha$ 1-3)Fru <sub>f</sub> ]	3,12 мМ
D-глюкоза	6,25 мМ
D-фруктоза	6,25 мМ
Трегалоза [DGlc( $\alpha$ 1-1)DGlc]	6,25 мМ
N-ацетил-D-глюкозамін	12,5 мМ
Сахароза [DGlc( $\alpha$ 1-4)Fru <sub>f</sub> ]	25 мМ
Дріжджовий манан	0,004%
Овомукоїд	0,06%
Ячний альбумін	0,06%
Пероксидаза хрону	0,125%
Інулін	0,25%
Муцин підщелепної залози бика	0,5%

П р и м і т к а: лектин не взаємодіяв у концентрації 100 мМ з D-галактозою, N-ацетил-D-галактозаміном,  $\alpha$ - і  $\beta$ -метил-D-галактозидами, L-рамнозою, L-фукозою, D-ксилозою, L-арабінозою, мелібіозою, лактозою та у концентрації 1% з глікогеном печінки свині, ламінарином, IgG людини, тиреоглобуліном бика, лужною фосфатазою кишечника теляти, тому їх у таблицю не внесено.





## В и с н о в к и

1. Розроблено методику комплексного використання бульб топінамбура: одержання інуліну, фруктози та манозоспецифічного лектину в одному технологічному циклі.

2. Вміст інуліну в бульбах топінамбура вже за місяць після закінчення вегетації є незначним і становить менш ніж 3% від маси екстрактивних речовин, або менш ніж 0,6% від маси висушених бульб.

3. Вміст олігосахаридів фруктози становить близько  $\frac{2}{3}$  всієї маси екстрактивних речовин, а після очищення водного екстракту іонообмінною хроматографією він становить понад 90%, звідки фруктозу можна одержати після кислотного гідролізу шляхом кристалізації з ізопропанолу або етанолу. Через складність одержання фруктози у кристалічному стані доцільніше згущати очищений екстракт і використовувати у вигляді фруктозо-глюкозних сиропів.

4. Розроблено нову методику очищення лектину топінамбура, найважливішою стадією якої є афінна хроматографія на співполімері крохмалю і дріжджового манану. Одержаний лектин, на відміну від інших манозоспецифічних лектинів, добре взаємодіє з фруктозою і фруктозовмісними оліго- і полісахаридами, що припускає його можливу участь у транспорті або накопиченні цих вуглеводів у рослині.

## Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Голубев В. Н., Волкова И. В., Кумаланов Х. М. Топинамбур: состав, свойства, способы переработки и применение. – М.: Медицина, 1995. – 185 с.

2. Князев Ю. А., Никберг И. И. Сахарный диабет. Фруктоза. – М.: Медицина, 1989. – 143 с.

3. Кисиева М. Т. Совершенствование способов получения инулина и пектина из клубней топинамбура (*Helianthus tuberosus*) и создание лекарственных средств на их основе: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Пятигорск, 2011. – 20 с.

4. Bourne Y., Zamboni V., Barre A. et al. *Helianthus tuberosus* lectin reveals a widespread scaffold for mannose-binding lectins // Structure. – 1999. – V. 7, N 12. – P. 1473–1482.

5. Marx S. P., Nösberger J., Frehner M. Seasonal variation of fructan- $\beta$ -fructosidase (FEH) activity and characterization of a  $\beta$ -(2-1)-linkage specific FEH from tubers of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) // New Phytologist. – 1997. – V. 135, N 2. – P. 267–277.

6. Zawistowski J., Biliaderis C. G., Murray D. E. Purification and characterization of jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) polyphenol oxidase // J. Food Biochem. – 1988. – V 12, N 1. – P. 1–22.

7. Антонюк В. О. Спосіб очищення манозоспецифічних лектинів. / Деклараційний патент на корисну модель, № 13770, Опубл. 17.04.2006, Заявка u200510008.

8. Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 360 с.

9. Луцук М. Д., Панасюк Е. Н., Антонюк В. А. и др. Методы исследования углеводной специфичности лектинов (Метод. рекомендации). – Львов, 1983. – 20 с.

10. Методы химии углеводов / Под ред. Н. К. Кочеткова. – М.: Мир, 1967. – 512 с.

11. Shifrin S., Consiglio E., Kohn L. D. Effect of the Complex Carbohydrate Moiety on the Structure of Thyroglobulin // J. Biol. Chem. – 1983. – V. 258. – P. 3780–3786.

12. Аспиналл Г. О., Херет Е. Л. Получение инулина из клубней георгина / Методы химии углеводов (Под ред Н. К. Кочеткова). – М.: Мир, 1967. – С. 370–371.

13. Методы химии углеводов / Под ред Н. К. Кочеткова. – М.: Мир, 1967. – С. 33–35.

14. Хроматография на бумаге / Под ред. И. М. Хайса, К. Мацька. – М.: Иностран. лит., 1962. – 780 с.

15. Голубев В. Н., Мамонова Г. В. Сохранение качества клубней топинамбура // Хранение и переработка сельхозсырья. – 1997. – № 12. – С. 20–23.

16. Артемьев В. Д., Манешев В. В. Особенности получения фруктозо-глюкозного сиропа из инулинсодержащего сырья // Вопр. питания. – 2001. – № 4. – С. 7–9.

17. Van Damme Els J. M., Barre A., Mazard A.-M. et al. Characterization and molecular cloning of the lectin from *Helianthus tuberosus* // Europ. J. Biochem. – 1999. – V. 259, N 1–2. – P. 135–142.

18. Bourne Y., Zamboni V., Barre A. et al. *Helianthus tuberosus* lectin reveals a widespread scaffold for mannose-binding lectins // Structure. – 1999. – V. 7, N 12. – P. 1473–1482.

19. Hilder V. A., Boulter D. et al. Expression of snowdrop lectin in transgenic tobacco plants results in added protection against aphids // Transgenic Res. – 1995. – V. 4. – P. 18–25.

20. Антонюк В. О., Панчак Л. В., Старикович М. О., Стойка Р. С. Новий манозоспецифічний лектин з кореневищ лілійника рудуватого (*Hemerocallis fulva* L.): очистка та властивості // Укр. біохім. журн. – 2013. – № 2. – С. 27–32.

21. Антонюк В. А., Яценко А. М. Конъюгирование лектинов с пероксидазой хрена: усовершенствование методики // Клини. лаб. діагностика. – 1996. – № 3. – С. 51–52.
22. Антонюк В. О. Лектини та їх сировинні джерела. – Львів: Кварт, 2005. – 554 с.
23. Хоматовский О. А., Луцки М. Д., Передерей О. Ф. Электронная гистохимия рецепторов клеточных мембран. – К.: Наук. думка, 1986. – 168 с.
24. Lutsyk A. D., Ambarova N. A., Antonyuk V. O. Diabetic alteration versus postnatal maturation of rat kidney glycoconjugates: a comparative detection by lectin probes // Folia histochemica et cytobiologica. – 2013. – V. 51, N 1. – P. 92–102.
25. Андреева В. А. Фермент пероксидаза. Участие в защитном механизме растений. – М.: Наука, 1988. – 128 с.

Надійшла до редакції 05. 02. 2014.

*В. А. Антонюк*

*Институт биологии клетки НАН Украины, г. Львов*

*Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого*

#### КОМПЛЕКСНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛУБНЕЙ ТОПИНАМБУРА (*HELIANTHUS TUBEROSUS* L.): ОЧИСТКА ИНУЛИНА, ФРУКТОЗЫ И МАННОЗОСПЕЦИФИЧНОГО ЛЕКТИНА

**Ключевые слова:** инулин, фруктоза, маннозоспецифичный лектин, очистка, свойства

#### АННОТАЦИЯ

Комплексное использование сырья – актуальная задача, позволяющая использовать его более рационально, что способствует сбережению природных ресурсов.

Целью настоящей работы была разработка методики совместного получения инулина, фруктозы и маннозоспецифичного лектина из клубней топинамбура.

В работе были использованы методы ионообменной и аффинной хроматографии, аналитические методы (колориметрия и хроматография на бумаге, электрофорез в полиакриламидном геле), биохимические методы (изучение углеводной специфичности лектина).

Установлено, что уже через месяц после окончания вегетации содержание инулина составляет менее 3% от массы экстрактивных веществ, в то время как содержание фруктозы и ее олигосахаридов составляет  $\frac{2}{3}$  массы экстрактивных веществ. Для маннозоспецифичного лектина исследовано взаимодействие с углеводами, в частности с инулином и фруктозосодержащими олигосахаридами. Автор предполагает возможное участие лектина в транспорте и накоплении углеводов в клубнях топинамбура.

*V. O. Antonyuk*

*Institute of Cell Biology of National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv*

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University*

#### INTEGRATED USE OF THE JERUSALEM ARTICHOKE (*HELIANTHUS TUBEROSUS* L.) TUBERS: PURIFICATION OF INULIN, FRUCTOSE AND MANNOSESPECIFIC LECTIN

**Key words:** inuline, fructose, mannose specific lectin, purification, properties

#### ABSTRACT

Comprehensive utilization of raw materials is an urgent task, allowing their more effective use and helping to conserve natural resources.

The aim of this study was to develop a technique co-production of inulin, fructose and mannose specific lectin from tubers of Jerusalem artichoke.

Ion exchange and affinity chromatography methods, analytical techniques (colorimetry and paper chromatography, polyacrylamide gel electrophoresis), biochemical methods (study the carbohydrate specificity of the lectin) have been used in this work.

It was found that one month after the finishing of the growing season inulin content was less than 3 % from the weight of extractive substances, while the content of fructose and its oligosaccharides was  $\frac{2}{3}$  of mass of extractives substances. Interaction of mannose-specific lectin with carbohydrates and in particular, with inulin and fructose-containing oligosaccharides was investigated. The author suggests the possible role of the lectin in the transport and accumulation of carbohydrates in the Jerusalem artichoke tubers.

*Електронна адреса для листування з автором: antonyuk@meduniv.lviv.ua*