

12. Виноделие, виноградарство, каталог отраслевых ресурсов [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <<http://eurowine.com.ua>>.
13. Современные измерительные методы идентификации [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <<http://www.znaytovar.ru>>.
14. Мавромустакос Т. ЯМР: Основы и применение спектроскопии ядерного магнитного резонанса в медицине, фармацевтической химии, биохимии, химии пищевых продуктов и напитков / Т. Мавромустакос, И. Матсукокс. – Афины : Мед. изд-во Яннис В. Парисьянос, 2006. – 623 с.
15. Сергеев Н. М. Спектроскопия ЯМР : учеб. пособие / Н. М. Сергеев. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1981. – 279 с.
16. Гюнтер Х. Введение в курс спектроскопии ЯМР : [пер. с англ.] / Х. Гюнтер. – М. : Мир, 1984. – 478 с.
17. Jeffrey L. Cross. The Application of Site-Specific Natural Isotope Fractionation-Nuclear Magnetic Resonance (SNIF-NMR) to the Analysis of Alcoholic Beverages The Chemical Educator / Thomas N. Gallaher, James J. Leary // Springer-Verlag New York, Inc. – 1998. – № 5. – P. 1–5.

Отримано 30.10.2012. ХДУХТ, Харків.

© С.Л. Богза, С.Ю. Суйков, Т.Ю. Брановицька, Д.П. Толстенко, Г.В. Матвійчук, 2012.

УДК 577.15:547.458

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

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

**О.В. Ломака**, асп. (ОНАХТ, Одеса)

## **ОТРИМАННЯ БЛОК-ПОЛІСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСУ ТА ЙОГО ХАРАКТЕРИСТИКА**

*Отримано комплекс арабіногалактану з протеолітичним ферментом бромелайном. Визначено умови комплексоутворення, за яких має місце максимальне збереження активності ферменту. Надано характеристику фізико-хімічних властивостей імобілізованого ферменту. Методами гелі-проникаючої хроматографії та ІЧ-спектроскопії досліджено процес взаємодії полісахариду з ферментом.*

*Получен комплекс арабиногалактана с протеолитическим ферментом бромелайном. Определены условия комплексообразования, при которых имеет место максимальное сохранение активности фермента. Дана характеристика физико-химических свойств иммобилизованого фермента. Методами гелі-проникающей хроматографии и ИК-спектроскопии исследован процесс взаимодействия полисахарида с ферментом.*

*The complex of arabinogalactan with bromeline proteolytic enzyme has been received. The conditions of the complex formation, under which maximal preservation of the enzyme activity occurs, are defined. The characteristic of physical and chemical peculiarities of immobilized enzyme is given. With the method of gel penetrating chromatography and infrared spectroscopy the interaction process of the polysaccharide with the enzyme has been researched.*

**Постановка проблеми у загальному вигляді.** На сьогодні суттєвою проблемою у світі стають хвороби, викликані ускладненнями серцево-судинних захворювань. Тому в останні роки велике значення надається розробкам дієтичних добавок та функціональних інгредієнтів, що здатні покращувати реологічні властивості крові, зменшувати її в'язкість та згущення, знижувати фібриноген і, відповідно, – агрегацію тромбоцитів, що призводить до інфарктів та інсультів.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** За результатами досліджень російських та американських учених, така здатність притаманна протеазам, зокрема бромелайну, ферменту рослинного походження, який використовується в харчових технологіях, нутриціології та медицині [1]. Однак установлено, що при загальній дозі бромелайну 8,6 г, уведеної пероральним шляхом, у крові пацієнтів виявляється лише 10,3 мкг. Це свідчить, що до кровотоку потрапляє незначна кількість цього ферменту [2].

Численні дослідження доводять, що включення біологічно активних речовин у матриці, які характеризуються мембранотропними властивостями, сприяє кращій розчинності включених сполук, пролонгації їх дії та підвищенню фізіологічної активності. Мембранотропними властивостями характеризується арабіногалактан – природний полісахарид, завдяки якому можливо підвищити проникність ферментів та інших БАР, що характеризуються низькою біодоступністю, через стінки кишечника.

**Мета та завдання статті.** Метою роботи було отримання комплексу бромелайну з водорозчинним полісахаридом арабіногалактаном сосни звичайної *Pinus silvestris* як транспортним засобом та надання характеристики отриманого продукту.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Арабіногалактан отримували біотехнологічним способом із тирси сосни звичайної *Pinus silvestris* [3]. Комплекс білок-полісахарид отримували, варіюючи масову частку бромелайну в розчині від 0,1 до 1,0%, арабіногалактану – від 0,1 до 2,5% при співвідношенні об'ємів водних розчинів ферменту та полісахариду 1:1, 1:2, 2:1 при  $t=22^{\circ}$  С. Отримані зразки ліофільно висушували. Комплекс характеризували за допомогою фізико-хімічних

методів (гель-хроматографії, ІЧ-спектроскопії), встановлювали рН- і термооптими та термостабільність. Молекулярну масу отриманого продукту визначали методом гель-проникаючої хроматографії на колонці (38 × 3 см) з сефадексом G-75, відкаліброваної за блакитними декстранами. Як розчинник та елюент використовували дистильовану воду. Вміст полісахариду у фракціях визначали антроновим методом, білка – методом Лоурі [4]. ІЧ-спектри зразків у таблетках із КВг знімали в інтервалі 500-4000 см<sup>-1</sup>.

На першому етапі досліджень визначали найбільш сприятливі умови для комплексоутворення бромелайну з арабіногалактаном, варіюючи концентрації ферменту й полісахариду в розчинах та їх об'ємні співвідношення.

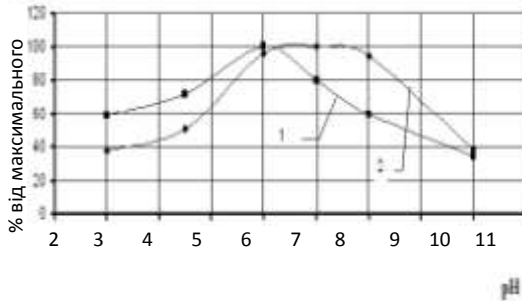
У результаті експериментальних досліджень встановлено: при об'ємних співвідношеннях розчинів ферменту та полісахариду 1:2 і 2:1 при концентрації кожної з вихідних речовин у рідкій фазі менше 0,5% протеолітична активність бромелайну в складі комплексу не перевищує 50% від такої вихідного ферменту. При співвідношенні об'ємів 1:1 розчинів полісахариду й ферменту в концентрації 0,5% активність бромелайну в отриманому препараті підвищується. У разі збільшення вмісту арабіногалактану в розчині від 0,5 до 2,5% активність ферментної складової комплексу сягає 80% від активності вільного ферменту. У результаті подальшого збільшення масової частки ферменту в розчині його активність не зменшується.

Для визначення тривалості процесу комплексоутворення контролювали активність ферменту в складі комплексу через кожні 15 хвилин протягом години. Установили, що максимальна протеолітична активність притаманна комплексу, що утворюється впродовж 30 хв. На 45 хвилині зв'язування обох вихідних компонентів ферментативна активність зменшується на 20% від максимальної.

Отже, найбільш сприятливими умовами для взаємодії бромелайну з арабіногалактаном зі збереженням максимальної ферментативної активності в кінцевому продукті слід вважати використання 0,5% розчинів ферментної та полісахаридної складових при їх об'ємних співвідношеннях 1:1 та тривалості процесу 30 хв.

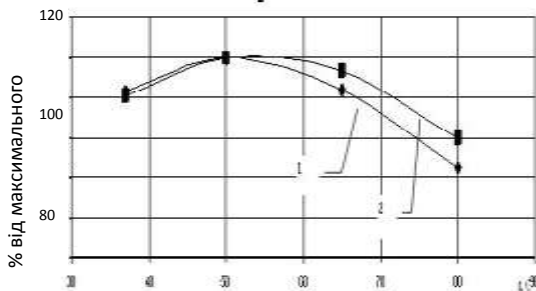
На рис. 1 наведено порівняльні дані щодо визначення рН-оптимуму дії вільного бромелайну та включеного в комплекс. Показано, що рН оптимум вільного бромелайну знаходиться біля 6 од. рН. У результаті комплексоутворення з арабіногалактаном його рН оптимум розширюється і знаходиться в інтервалі значень рН від 6 до 8. Такі умови є сприятливими щодо дії білок-полісахаридного препарату в кров'яному руслі, оскільки рН крові становить 7,36...7,44.

У лужному середовищі рН 8...10 активність ферменту в складі комплексу зберігається на 40%, а в кислому середовищі (рН = 2,0...4,5) – на 40...51% від максимальної активності бромелайну в складі комплексу. Це свідчить, що арабіногалактан в умовах кислого середовища шлунку сприятиме збереженню активності ферменту.



**Рисунок 1 – рН-оптимум бромелайну: 1 – вільний фермент; 2 – фермент у складі комплексу**

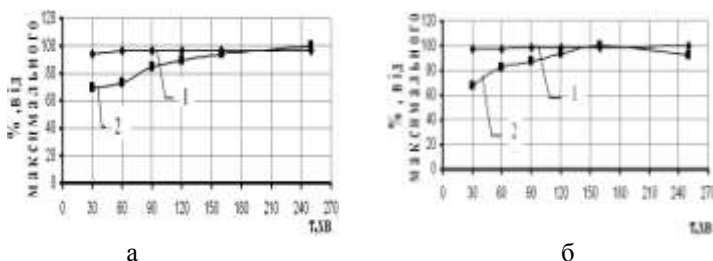
Активність бромелайну, досліджуваного продукту в інтервалі температур 37...50° С, рН 6 зберігається практично на 82...100%. При 50° С активність як вільного ферменту, так і ферменту в складі комплексу є максимальною. При підвищенні температури до 80° С фермент у комплексі з арабіногалактаном є стійкішим порівняно з вихідним. За температурах 65...80° С збереження активності імобілізованого ферменту на 6...20% вище порівняно з вільним.



**Рисунок 2 – Термооптимум бромелайну: 1 – вільний фермент; 2 – фермент у складі комплексу**

Термостабільність ферменту в отриманому продукті визначали при фізіологічних значеннях температури (37° С) та температурі 50° С (можлива температура сушіння).

У результаті досліджень встановлено, що бромелайн при зазначених температурах має сталу активність. У комплексі з арабіногалактаном за цих умов його активність поступово зростає до максимальної (рис. 3 а, б). При 37° С максимальної активності фермент у комплексі досягає при 4,5 год (рис. 3а), у той час як при 50° С – за 3 год (рис. 3б). Це свідчить, що комплекс проявляє пролонговану дію.

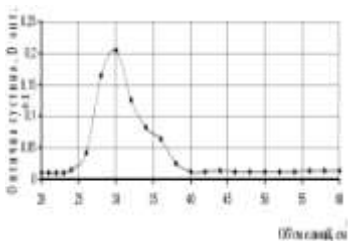


**Рисунок 3 – Термостабільність бромелайну: 1 – вільного; 2 – у складі комплексу; а – 37° С; б – 50° С**

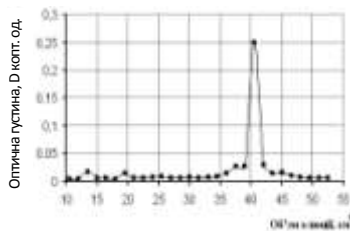
Таким чином, оптимальне значення рН для бромелайну в складі комплексу знаходиться в межах 6...8, його термооптимум складає 50° С. Імобілізований фермент є стійким до кислих значень рН середовища та термостійким до дії температур протягом 3...4,5 год.

Додатковим підтвердженням утворення комплексу арабіногалактан – бромелайн є результатом дослідження отриманого продукту методами гель-хроматографії та ІЧ-спектроскопії.

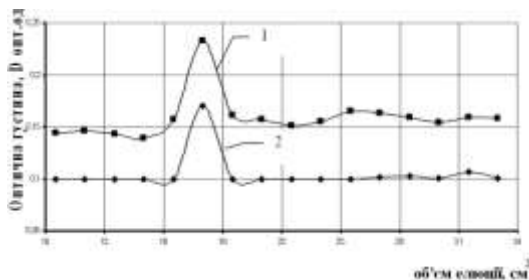
Вихідні криві елюції арабіногалактану та ферменту на сефадексі G-75 представлено на рис. 4, 5, а продукту їх взаємодії – на рис. 6.



**Рисунок 4 – Гель-хроматограма арабіногалактану**



**Рисунок 5 – Гель-хроматограма бромелайну**



**Рисунок 6 – Гель-хроматограма комплексу арабіногалактан-бромелайн:  
1 – полісахаридна складова; 2 – білкова складова**

Як видно з наведених результатів, піки полісахаридної та білкової складових сумісні, і об'єм їх виходу відповідає значенню молекулярної маси голубого декстрану 90 kDa і є адитивною величиною молекулярних мас арабіногалактану (65 kDa) та бромелайну (33 kDa). Таким чином, отримані дані є ознакою утворення комплексу між досліджуваними полісахаридом і ферментом.

Порівняно з ІЧ-спектрами вихідних сполук, у спектрі продукту взаємодії арабіногалактан-бромелайн має місце зміщення смуги поглинання карбонільних груп у низькочастотну область; смуги поглинання гідроксильних груп – у високочастотну; смуга поглинання груп  $\text{NH}_2$  у спектрі комплексу знаходиться при  $3305\dots3345 \text{ cm}^{-1}$ , тоді як відповідна смуга поглинання в ІЧ-спектрі бромелайну складає  $3290\dots3417 \text{ cm}^{-1}$ .

Отже, інтерпретація спектрів поглинання комплексу та його складових в інфрачервоній області показала, що взаємодія арабіногалактану з бромелайном супроводжується значними змінами в ІЧ-спектрі.

Сукупність даних, отриманих за допомогою гель-хроматографії та ІЧ-спектроскопії, може розглядатися як свідчення утворення комплексу між досліджуваними полісахаридом і ферментом.

**Висновки.** Таким чином, отримано комплекс арабіногалактану з бромелайном. Утворення комплексу підтверджується методами гель-хроматографії та ІЧ-спектроскопії. Розроблено умови комплексоутворення та надано характеристику отриманого комплексу.

#### *Список літератури*

1. Gregory S. Bromelain: a literature review and discussion of its therapeutic applications / S. Gregory, N. D. Kelly // *Alt. Med. Rev.* – 1996. – № 1

(4).

P. 243–257.

2. Castel J. V. Intestinal absorbtion of undegraded bromelain in humans. In: Absorbtion of orally administered enzymes / M. L. Gardner, K.-J. Steffens // Eds.– Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1995. – P. 47–60.

3. Черно Н. К. Дослідження арабіногалактану деревини *Pinus silvestris* / Н. К. Черно, Л. С. Гураль, О. В. Ломака // Харчова наука і технологія. – 2011. – № 4(17). – С. 22–26.

4. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений // А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош. – Л. : Агропромиздат, 1987. – 430 с.

Отримано 30.10.2012. ХДУХТ, Харків.

© Н.К. Черно, Л.С. Гураль, О.В. Ломака, 2012.

УДК [635.82:66.014]-028.44

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

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

**О.В. Нікітіна**, асп. (*ОНАХТ, Одеса*)

## **ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХІМІЧНОГО СКЛАДУ МОРФОЛОГІЧНИХ ЧАСТИН *AGARICUS BISPORUS***

*Показано, що морфологічні частини печериць (*Agaricus bisporus*) відрізняються за хімічним складом. Установлено, що шапинки характеризуються більш високим вмістом білкових речовин, меланінів та ліпідів, а ніжки – вуглеводів.*

*Показано, что морфологические части шампиньонов (*Agaricus bisporus*) отличаются по химическому составу. Установлено, что шляпки характеризуются более высокой массовой долей белковых веществ, меланинов и липидов, а ножки – углеводов.*

*It is shown that the morphological parts of the mushrooms (*Agaricus bisporus*) are different in the chemical composition. The content of proteins, lipids and melanins in the caps is higher than the one in the stipes but they have the higher carbohydrates level than the caps.*

**Постановка проблеми у загальному вигляді.** Останнім часом вищі гриби привертають до себе все більше уваги. Імовірно, це пов'язано з тим, що макроскопічні гриби широко застосовуються традиційною східною медициною для профілактики та лікування