

Проведені дослідження протеолізу білку в ферментних препаратах Neolactase і GODO-YNL2 і дослідження вуглеводного складу гідролізованого молока. Вперше експериментально обґрунтовується доцільність використання препарату GODO-YNL2 для ферментативного гідролізу лактози при виробництві згущених молочних консервів з цукром.

Ключові слова: ферментні препарати, гідролізоване згущене молоко, протеоліз білку, активність препарату, лактоза, глюкоза, галактоза.

Application of enzyme preparations for galactosidase β -lactose hydrolysis milk and milk study carbohydrate composition hydrolyzed by the production of condensed milk with sugar have been done / E.D. Kalinina, A.V. Kovalenko, O.V. Kornilova //Bulletin of NTU “KhPI”. Series: New desicions of modern technologies. – Kharkov: NTU “KhPI”, 2014.-№ 17 (1060).- P.150-157. Bibliogr.14 : . ISSN 2079-5459

The investigations of proteolysis of protein in the enzyme preparations and Neolactase GODO-YNL2 research and carbohydrate composition of the hydrolyzed milk have been done. For the first time, the experimental use of the drug the expediency GODO-YNL2 for enzymatic hydrolysis of lactose in the production of canned condensed milk with sugar is grounded.

Keywords: enzyme preparations hydrolyzed, condensed milk, protein proteolysis, activity of the drug, lactose, glucose, galactose.

УДК 577.3

В. Е. НОВИКОВА, ст. препод., ХНТУСХ, Харків;

Л. А. ПИХ, ст. препод., ХНТУСХ, Харків;

Н. Н. ТИМЧЕНКО, канд. биол. наук, доц., ХНТУСХ, Харків

ВЛИЯНИЕ РАСТВОРОВ СОЛЕЙ И ЗАМОРАЖИВАНИЯ-ОТТАИВАНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ МЕТГЕМОГЛОБИНОВ А И F

Проведены исследования влияния растворов солей и замораживания-оттаивания на содержание метгемоглобинов А и F.

Ключевые слова: гемоглобин А, фетальный гемоглобин, метгемоглобин, концентрация, замораживание-оттаивание.

Введение. Гемоглобин — это тетрамерная молекула, состоящая из четырех полипептидных цепей [1]. Каждая из этих цепей присоединена к гему — простетической группе (гем-группе), включающей комплекс из железа и протопорфирина IX. Таким образом, в молекуле гемоглобина находится четыре гем-группы, в каждой из которых есть один атом железа, он может обратимо присоединить одну молекулу кислорода. Четыре полипептидные цепи (две альфа- и две бета-цепи) образуют белковую часть молекулы — глобин, которым определяются видовые и индивидуальные свойства гемоглобина. Глобин обладает высокой степенью спирализации, и в каждой цепи имеются спиральные участки, которые чередуются с неспиральными. Спиральные участки каждой цепи уложены в плотную глобулу, внутри которой в специальном углублении («кармане») находится гем. Между субъединицами молекулы гемоглобина, которая симметрична, существует несколько типов контактов, отличающихся числом и химической природой аминокислотных остатков, участвующих в

контактах. Внутри молекулы перпендикулярно друг к другу расположены две полости, одна из которых разделяет альфа-, а другая — бета-цепи. Гемоглобин, не связанный с кислородом и содержащий гем с ферро-ионом (Fe^{2+}), называют деоксигемоглобином, феррогемоглобином или восстановленным гемоглобином и сокращенно обозначают Hb. Полностью оксигенированный Hb, называемый оксигемоглобином (HbO_2), содержит четыре молекулы кислорода (O_2) на молекулу гемоглобина. Транспорт гемоглобином CO_2 от тканей к легким осуществляется не гемом, а глобином, так как CO_2 присоединяется к свободным аминогруппам. Взаимодействуя друг с другом, альфа- и бета-цепи образуют четвертичную структуру, причем места контактов цепей в окси- и деоксиформе различны, т.е. при присоединении и отдаче кислорода происходят конформационные изменения молекулы гемоглобина. Оксигенация гемоглобина сопровождается смещением атома железа относительно порфиринового кольца; это приводит к кооперативным структурным изменениям бета-цепей, в результате которых расстояние между ними и гемами увеличивается, что позволяет поместиться молекуле кислорода, тогда как при оксигенации альфа-цепей нет необходимости в их смещении, в связи с чем они вступают в реакцию с кислородом раньше, чем бета-цепи. Таким образом, субъединицы молекулы гемоглобина оксигенируются не одновременно, а последовательно, и количество энергии, необходимое для присоединения кислорода, постепенно снижается от первого к четвертому гему, уменьшается также время, необходимое для этого процесса, т.е. реакция с кислородом для бета-цепей протекает более легко.

Изменение сродства к кислороду различных гемов молекулы гемоглобина называют гем-гем взаимодействием, или кооперативным эффектом, оцениваемым константой Хилла по КДО, сигмовидная форма которой непосредственно связана с гем-гем взаимодействием. Кооперативный эффект — уникальное свойство гемоглобина по сравнению с другими белками-переносчиками, что сближает его по функциональным свойствам с аллостерическими ферментами, обладающими кооперативностью. Такой продукт метаболизма эритроцитов, как 2,3-ДФГ, постоянно участвует в изменении кислородсвязывающих свойств гемоглобина.

Такие окислители, как пероксиды, нитриты, феррицианид калия и хиноны могут окислить Fe^{2+} в гемоглобине до Fe^{3+} с образованием метгемоглобина (MetHb), его еще называют ферригемоглобином, который не присоединяет O_2 . Уникальной особенностью гемоглобина является его способность обратимо связывать O_2 , образуя стабильный комплекс, без окисления гемового Fe^{2+} в Fe^{3+} [2].

В физиологических условиях в здоровом организме в процессе его жизнедеятельности появляются продукты превращения гемоглобина. Они образуются при воздействии ряда веществ и не являются следствием наследственно обусловленного изменения структуры гемоглобина. Как упомянуто выше, в крови присутствует некоторое количество метгемоглобина. В норме в зрелых эритроцитах содержится примерно до 2% метгемоглобина (MetHb), который образуется за счет аутоокисления. Однако дальнейшего накопления MetHb не происходит, поскольку он способен снова восстанавливаться в Hb при участии НАДН и НАДФН в комплексе с метгемоглобинредуктазой. В свою очередь, достаточное образование восстановленных форм никотиновых

коферментов происходит на этапах метаболизма глюкозы по гликолитической цепи и пентозофосфатному циклу. По мере старения эритроцита в нем снижается активность некоторых ферментов (80-дневная клетка содержит уже около 8% MetHb).

Цель работы. Целью работы является исследование влияния растворов солей и замораживания-оттаивания на содержание метформ гемоглобина А и фетального гемоглобина.

Методика экспериментов. Оксигемоглобин А (HbA) человека выделяли из свежей крови осмотическим лизисом эритроцитов, предварительно трижды отмытых изотоническим раствором NaCl (0,15M). Гемолизат готовили путем добавления одного объема дистиллированной воды и хранения 24 часа при +4°C, далее осаждали разрушенные клеточные мембраны при помощи ультрацентрифугирования при 15000 g в течение 15 мин. Гемоглобин А очищали методом гель-проникающей хроматографии на колонке диаметром 25 мм и длиной 40 см с сефадексом G-100. Отцентрифугированный раствор гемоглобина (надосадок) наносили на колонку и проводили элюцию при +4°C. Концентрация гемоглобина в растворе контролировалась на спектрофотометре на длине волны 577 нм.

Оксигемоглобин F (HbF) человека выделяли из свежей кордовой крови. Гемолизат готовили, как описано выше. Фетальный гемоглобин выделяли из гемоглобина кордовой крови путем денатурирования гемоглобина А раствором NaOH и последующего осаждения денатурированного гемоглобина А насыщенным раствором сульфата аммония. Гемоглобин F очищали на хроматографической колонке так же, как это описано для гемоглобина А. Выход белка контролировали спектрофотометрически по поглощению раствора при 560 и 577 нм [3].

Содержание окси-, дезокси- и метформ HbF и HbA вычисляли по методам [3, 4]. Замораживание растворов гемоглобинов А и F проводили в физиологическом растворе со средней скоростью 200°C/мин до температуры жидкого азота. Замораживание растворов HbA и HbF в присутствии различных концентраций NaCl и KCl проводили при тех же условиях. Оттаивание осуществляли на водяной бане при +20°C.

Обсуждение результатов. Количественное определение окси-, дезокси- и метформ гемоглобинов в растворах HbA и HbF с различными концентрациями NaCl показало, что в растворах солей, не вызывающих диссоциацию этих белков, увеличивается содержание дезоксигемоглобина и уменьшается содержание оксигемоглобина, а в растворах, которые приводят к диссоциации гемоглобинов А и F, повышается содержание метгемоглобина за счет уменьшения количества оксигемоглобина; для HbF увеличение содержания метформы начинается при меньших концентрациях натрия хлорида. До замораживания-оттаивания содержание метформы в растворе гемоглобина А (в 0,15M NaCl) составляет $3,0 \pm 0,7\%$, в растворе фетального гемоглобина (в 0,15M NaCl) $5,0 \pm 1,0\%$. Непосредственно сразу после замораживания-оттаивания количество метгемоглобина А практически не изменяется и составляет $4,4 \pm 0,8\%$, количество метформы фетального гемоглобина также не изменяется и равно $6,4 \pm 0,9\%$. Содержание метформы в растворе гемоглобина А в 0,5M NaCl не отличается от ее

количества в растворе гемоглобина А в 0,15М NaCl и составляет $3,5\pm 0,8\%$, в растворе фетального гемоглобина в 0,5М NaCl содержание метформы не отличается от ее количества в растворе фетального гемоглобина в 0,15М NaCl и равно $5,4\pm 0,9\%$. После замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 0,5М NaCl содержание метгемоглобина практически не отличается от его количества до замораживания-оттаивания и составляет $4,6\pm 1,0\%$. После замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 0,5М NaCl содержание метформы практически не отличается от ее количества до замораживания-оттаивания и равно $6,7\pm 0,8\%$. До и после замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 1М NaCl количество метгемоглобина практически не отличается от содержания его в растворе гемоглобина А в 0,15М NaCl и составляет $3,6\pm 0,8\%$ до и $4,7\pm 0,9\%$ после. До замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 1М NaCl содержание метформы не отличается от количества ее в растворе фетального гемоглобина в 0,15М NaCl и равно $5,7\pm 0,9\%$. После замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 1М NaCl количество метгемоглобина увеличивается и составляет $12,2\pm 0,9\%$. До замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 1,5М NaCl количество метгемоглобина не отличается от содержания его в растворе гемоглобина А в 0,15М NaCl и равно $3,7\pm 1,0\%$. После замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 1,5М NaCl содержание метформы увеличивается и составляет $12,6\pm 0,8\%$. До замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 1,5М NaCl содержание метформы увеличивается по сравнению с количеством ее в растворе фетального гемоглобина в 0,15М NaCl и равно $10,2\pm 0,9\%$. После замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 1,5М NaCl количество метгемоглобина составляет $12,8\pm 0,9\%$. До замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 2М NaCl содержание метформы увеличивается по сравнению с количеством ее в растворе гемоглобина А в 0,15М NaCl и равно $9,9\pm 0,9\%$. После замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 2М NaCl количество метгемоглобина составляет $12,7\pm 0,9\%$. До и после замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 2М NaCl содержание метформы равно $10,5\pm 0,8\%$ и $13,1\pm 0,9\%$ соответственно.

При исследовании действия различных концентраций KCl на содержание форм гемоглобина было выяснено, что до замораживания-оттаивания содержание метформы в растворе гемоглобина А (в 0,15М KCl) составляет $3,0\pm 0,7\%$, в растворе фетального гемоглобина (в 0,15М KCl) $5,0\pm 1,0\%$. Непосредственно сразу после замораживания-оттаивания количество метгемоглобина А практически не изменяется и составляет $4,2\pm 0,9\%$, количество метформы фетального гемоглобина также не изменяется и равно $6,4\pm 0,8\%$. Содержание метформы в растворе гемоглобина А в 0,5М KCl не отличается от ее количества в растворе гемоглобина А в 0,15М KCl и составляет $3,6\pm 0,9\%$, в растворе фетального гемоглобина в 0,5М KCl содержание метформы не отличается от ее количества в растворе фетального гемоглобина в 0,15М KCl и равно $5,6\pm 0,9\%$. После замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 0,5М KCl содержание метгемоглобина практически не отличается от его количества до замораживания-оттаивания и составляет $4,7\pm 1,0\%$. После замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 0,5М KCl содержание метформы практически не отличается от ее количества до

замораживания-оттаивания и равно $6,5 \pm 0,7\%$. До и после замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 1М КСl количество метгемоглобина практически не отличается от содержания его в растворе гемоглобина А в 0,15М КСl и составляет $3,7 \pm 0,9\%$ до и $4,8 \pm 0,8\%$ после. До замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 1М КСl содержание метформы не отличается от количества ее в растворе фетального гемоглобина в 0,15М КСl и равно $5,7 \pm 0,8\%$. После замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 1М КСl количество метгемоглобина увеличивается и составляет $12,3 \pm 0,9\%$. До замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 1,5М КСl количество метгемоглобина не отличается от содержания его в растворе 0,15М КСl и равно $3,8 \pm 0,9\%$. После замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 1,5М КСl содержание метформы увеличивается и составляет $12,3 \pm 0,9\%$. До замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 1,5М КСl содержание метформы увеличивается по сравнению с количеством ее в растворе фетального гемоглобина в 0,15М КСl и равно $10,3 \pm 1,0\%$. После замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 1,5М КСl количество метгемоглобина составляет $12,7 \pm 0,9\%$. До замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 2М КСl содержание метформы увеличивается по сравнению с количеством ее в растворе гемоглобина А в 0,15М КСl и равно $9,8 \pm 0,8\%$. После замораживания-оттаивания раствора гемоглобина А в 2М КСl количество метгемоглобина составляет $12,5 \pm 0,8\%$. До и после замораживания-оттаивания раствора фетального гемоглобина в 2М КСl содержание метформы равно $10,4 \pm 0,9\%$ и $13,0 \pm 0,9\%$ соответственно.

Таким образом, было выяснено, что до замораживания-оттаивания увеличение содержания метформы гемоглобина А начинается в присутствии 2М NaCl и КСl, а количество метформы гемоглобина F начинает увеличиваться в присутствии 1,5М NaCl и КСl. После замораживания-оттаивания повышение уровня метгемоглобина А происходит при 1,5М NaCl и КСl, а для фетального гемоглобина подобное увеличение наблюдается при 1М NaCl и КСl.

Выводы. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что фетальный гемоглобин менее устойчив, чем гемоглобин А, к действию растворов NaCl и КСl концентрациями 0,5-3,5М и последующему замораживанию-оттаиванию в присутствии этих концентраций солей. Гемоглобин F после замораживания-оттаивания проявляет меньшую устойчивость к повреждающему действию концентрированных растворов солей по сравнению с картиной до замораживания-оттаивания. Диссоциация белков под действием концентрированных солевых растворов, по-видимому, является причиной повышения содержания метгемоглобина после замо. раживания-оттаивания.

Список литературы: 1. Уайт А. Основы биохимии [Текст] / А. Уайт, Ф. Хендлер - М.: Мир, 1981. - Т.3. - 726 С. 2. Страйер Л. Биохимия [Текст] / Л. Страйер - М.: Мир, 1984. - Т.1. - 232 С. 3. Fogh-Andersen N. Spectrophotometric determination of hemoglobin pigments in neonatal blood / N. Fogh-Andersen, O. Siggaard-Andersen // Clinica Chimica Acta. - 1987. - Vol. 166. - P. 291-296. 4. Стусь Л. Н. Осцилляция форм гемоглобина в процессе хранения крови [Текст] / Л. Н. Стусь, Е. Д. Розанова // Биофизика. - 1992. - Т. 37, ? 2. - С. 387-388.

Bibliography (transliterated): 1. *White A. Fundamentals of Biochemistry [Text] / A. White, F. Handler - New York: Wiley, 1981. - V.3. - 726 С.* 2. *Спрайер Л. Биохимия [Текст] / Л. Спрайер - М.: Мир, 1984. - Т.1. - 232 С.* 3. *Fogh-Andersen N. Spectrophotometric determination of hemoglobin pigments in neonatal blood / N. Fogh-Andersen, O. Siggaard-Andersen // Clinica Chimica Acta. - 1987. - Vol. 166. - P. 291-296.* 4. *Stus LN oscillation forms of hemoglobin in the blood storage [Text] / LN Stus, ED Rozanov // Biophysics. - 1992. - Т. 37? 2. - S. 387-388.*

Поступила (received) 14.03.2014

УДК 577.3

Влияние растворов солей и замораживания-оттаивания на содержание метгемоглобинов А и F/ В. Е. Новикова, Л. А. Пих, Н. Н. Тимченко // Вісник НТУ «ХПІ». Серія: Нові рішення в сучасних технологіях. – Х: НТУ «ХПІ», – 2014. - № 17 (1060).– С.157-162 . – Бібліогр.:4 назв. ISSN 2079-5459

Проведены исследования влияния растворов солей и замораживания-оттаивания на содержание метгемоглобинов А и F.

Ключевые слова: гемоглобин А, фетальный гемоглобин, метгемоглобин, концентрация, замораживание-оттаивание.

Проведено дослідження впливу розчинів солей і заморожування-відтаювання на вміст метгемоглобінів А і F.

Ключові слова: гемоглобін А, фетальний гемоглобін, метгемоглобін, концентрація, заморожування-відтаювання.

Effect of salt solutions and freezing-thawing on the methemoglobin A and F contain/ V. E. Novikova, L. A. Pih, N. N. Timchenko //Bulletin of NTU “KhPI”. Series: New desicions of modern technologies. – Kharkov: NTU “KhPI”, 2014.-№ 17 (1060).- P.157-162. Bibliogr.:4. ISSN 2079-5459

Researches of effect of salt solutions and freezing-thawing on the methemoglobin A and F contain are carried out.

Keywords: hemoglobin A, fetal hemoglobin, methemoglobin, concentration, freezing-thawing.

УДК 637.146.3

Ю. В. НАЗАРЕНКО, канд. техн. наук, зав. каф., Сумський національний аграрний університет

БИОТЕХНОЛОГИЧНИ ОСОБЛИВОСТІ СПІЛЬНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ТРИШТАМОВОЇ ЗАКВАШУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ БІФІДОБАКТЕРІЙ З МЕЗОФІЛЬНИМИ МОЛОЧНОКИСЛИМИ ЛАКТОКОКАМИ

В роботі наведено результати досліджень особливостей спільного культивування змішаних культур адаптованих до молока біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів з підвищеними протеолітичними властивостями у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою.

Ключові слова: дитяче харчування, адаптація, біфідобактерії, мезофільні молочнокислі лактококи, біфідогенний фактор, ферментація, прібіотичні властивості.

Вступ. Результати наукових досліджень проведених в останні роки, показують, що харчування дитини впливає не тільки на її ріст, розвиток і стан здоров'я. Стало очевидним, що харчування на першому році життя "програмує" метаболізм таким чином, що ті чи інші порушення харчування можуть збільшити

© Ю. В. НАЗАРЕНКО, 2014