

Автореферат  
MIS

**ОДЕСЬКА ДЕРЖАВНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ  
ТЕХНОЛОГІЙ**

На правах рукопису

**Макаринська Алла Василівна**

УДК 577.151.041:678.6

**ТЕХНОЛОГІЯ ВОЛОКНИСТОЇ КОМПОЗИЦІЇ З  
АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЮ ТА ФЕРМЕНТАТИВНОЮ  
АКТИВНОСТЯМИ**

Спеціальність 03.00.20 - біотехнологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата технічних наук

Одеса - 1999

СВ

Дисертацією є рукопис  
Робота виконана в Одеській державній академії харчових технологій,  
Міністерство освіти України.

Науковий керівник: доктор технічних наук, професор,  
Черно Наталія Кирилівна,  
Одеська державна академія харчових  
технологій, зав. кафедрою органічної хімії

Офіційні опоненти: доктор технічних наук, професор,  
Капрельянц Леонід Вікторович,  
Одеська державна академія харчових  
технологій, зав. кафедрою біохімії та  
мікробіології

доктор медичних наук, старший науковий  
співробітник,  
Гуліч Марія Павлівна,  
Український науковий гігієнічний центр,  
м.Київ, зав. лабораторією гігієни харчування

Провідна установа: Український науково-дослідний інститут  
спирту і біотехнології продовольчих  
продуктів Міністерства агропромислового  
комплексу України, відділ технології  
продуктів бродіння та мікробного  
синтезу м.Київ

Захист відбудеться «18» березня 1999 р. <sup>00</sup>19 годині на засіданні  
спеціалізованої вченої ради Д 41.088.02 Одеської державної академії  
харчових технологій (270039, м. Одеса-39, вул. Канатна, 112)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеської державної  
академії харчових технологій (270039, м. Одеса-39, вул. Канатна, 112)

В. В. 17327  
ОДАХТ  
Бібліотека

Handwritten notes on a piece of paper, including the number 12 in red ink.

ОНАХТ 19.09.12  
Технологія волокнист



v017327

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Харчування - один з найважливіших факторів, який впливає на стан здоров'я населення в сучасних екологічних умовах. Невідповідність структури харчування на Україні вимогам нутриціології обумовлює ризик розвитку захворювань шлунково-кишкового тракту. Накопичений міжнародний досвід свідчить про те, що ефективним напрямком профілактики та лікування патологій шлунково-кишкового тракту (ШКТ) є використання біологічно-активних добавок (БАД) до їжі, корегуючих пошкоджені ланцюги гомеостазу.

Важливою тенденцією у розробці БАД є створення багатокомпонентних парафармацевтиків, які сполучають різні субстанції, що забезпечує досягнення синергетичного ефекту та максимальну дію препарату. Парафармацевтики, по суті, є засоби, які займають проміжне положення між їжею та фармакологічними препаратами. Вони справляють регулюючу дію на органи і системи, готуються виключно з натуральної або тваринної сировини. До них відносять регулятори функціональної активності органів і систем, імуностимулятори, адаптогени, пробіотики, антибіотики, еубіотики та інші БАД.

Серед зарубіжних країн лідером в створенні БАД є США. Широкий спектр БАД виробляється в Франції, Швеції, Фінляндії та інших країнах дальнього зарубіжжя. В останні роки дослідження у цій галузі почали інтенсивно розвиватися в Росії. В Україні потреба в БАД, будучи вельми значною, задовольняється практично тільки за рахунок їх імпорту, у зв'язку з чим проблема розробки вітчизняних БАД надто актуальна.

Широке поширення на Україні функціональних патологій ШКТ, супровідних ензимною недостатністю і ускладнених у ряді випадків кишковими інфекціями, визначає доцільність створення комплексних парафармацевтиків, які містять ферменти замісної терапії та інші лікарські сполуки шляхом їх соїммобілізації на біологічно активних носіях - ентеросорбентах. Наявність токсичних речовин, отрутохімікатів, пестицидів та радіонуклідів в раціонах харчування наряду з дефіцитом незамінних нутриєнтів негативно впливає на стан здоров'я населення. В Україні за останні 5-10 років спостерігається тенденція хронізації та росту функціональних порушень травлення. Це пов'язано з збільшенням інфекційних захворювань, так з дефіцитом травних ферментів. Серед інфекційних захворювань значне місце займають кишкові інфекції: сальмонельоз, дизентерія, коліти, ентероколіти і т.д., численність яких кожен рік складає близько 200 тис.

В терапії шлункових захворювань використовується значна кількість ліків, для яких, поряд з терапевтичною дією, характерно токсичні ефекти, складна взаємодія між собою та з організмом хворої людини.

Сукупність розглянутих проблем обґрунтовує актуальність створення біологічно-активної добавки з антибіотичною та ферментною активністю на основі природного ентеросорбенту - харчових волокон.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Робота виконувалась згідно з напрямками наукових досліджень ОДАХТ, зокрема з програмою I/94-ІП ( N держреєстрації UA 01001080P) "Розробити нові види харчових волокон та композицій на основі рослинних клітинних стінок і продуктів, збагачених ними, для лікувально-профілактичного харчування", з програмою I/97-ІІ ( N держреєстрації 0197 U 816053) "Отримання біологічно-активних добавок адаптогенної і лікувальної дії на основі харчових волокон".

**Мета і задачі досліджень.** Розробка технології парафармацевтика з антибіотичними, ферментативними та детоксикаційними властивостями (КПАФ).

До задач досліджень входило:

- обґрунтувати можливість іммобілізації на ХВ антибіотика поліміксина разом з ліполітичним ферментом солізимом та аміолітичним ферментом  $\alpha$ -амілазою;
- розробити умови фізичної адсорбції досліджуваних речовин на харчових волокнах висівків пшениці;
- встановити взаємний вплив та властивості речовин, які входять до складу КПАФ;
- обґрунтувати та визначити умови таблетування КПАФ, надати характеристику таблетованого КПАФ;
- визначити детоксикаційні властивості розробленого препарату КПАФ;
- розробити технологію виробництва таблетованого КПАФ та провести промислову апробацію розробленої технології;
- розробити нормативну-технічну документацію на таблетований КПАФ, впровадити результати досліджень у виробництво.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлена можливість адсорбції на ХВ антибіотичних препаратів - поліміксину М і В; виявлено, що поліміксин В з'являється неоднорідною за молекулярною масою речовиною, що зумовлює її меншу стабільність, порівнюючи з поліміксином М, при їх іммобілізації. Досліджено, що сумісна адсорбція антибіотика та ферментів не впливає на їх активність; поряд з тим ХВ сприяють збільшенню стабільності досліджуваних речовин, зокрема у шлунково-кишковому середовищі та під впливом високих температур. Встановлено, що розроблений препарат КПАФ має високі детоксикаційні властивості. Таблетовані форми КПАФ проявляють значну антиоксидантну активність; вперше виявлена можливість сорбції препаратами КПАФ трихотеценових мікотоксинів та зеараленону. Результатами клінічних досліджень встановлено його високу ефективність. Наукову новизну розробленої технології підтверджено Патентом N

24865А України "Комплексний препарат на основі харчових волокон".

**Практичне значення отриманих результатів.** Розроблена нормативно-технічна документація на виробництво парафармацевтика КПАФ. Запропонована технологія виробництва КПАФ впроваджена на Межирічському вітамінному заводі.

В умовах центральної городської лікарні м. Первомайськ Миколаївської обл. при дослідженні розробленого парафармацевтика (біологічно-активної добавки) отримані позитивні результати ефективності лікувально-профілактичної дії цього препарату.

**Особистий внесок здобувача.** Автор дисертації особисто брав участь у виконанні досліджень та отриманні усіх наукових результатів, викладених у роботі. Його внесок полягає у постановці та проведенні експериментів, узагальненні отриманих результатів. Це підтверджується поданими здобувачем документами та науковими публікаціями.

**Апробація роботи.** Результати досліджень доповідались на щорічних конференціях професорсько-викладацького складу ОДАХТ (Одеса, 1995-1998рр.) Міжнародній науково-практичній конференції "Енергоресурсозберігаючі технології переробки сільськогосподарської сировини" (Мінськ, 1996), Міжнародній науково-технічній конференції "Розробка та впровадження прогресивних ресурсоощадних технологій та обладнання в харчову та переробну промисловість" (Київ, 1997р.), Міжнародній науково-практичній конференції "Хлібопродукти-97" (Одеса, 1997р.), науково-технічній конференції "Наукові та практичні аспекти удосконалення якості та експертиза харчових продуктів" (Одеса, 1998р.).

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 9 друкованих праць, у тому числі 5 - у збірнику наукових праць ОДАХТ, 1 патент України. 3 - тези доповідей до наукових конференцій.

**Структура дисертації.** Дисертаційна робота складається з: вступу, 6 розділів, висновків, списку літератури та додатків. Зміст роботи викладено на 171 сторінках, включаючи: 30 таблиць (14 сторінок), 28 ілюстрацій (15 сторінок), 11 додатків (25 сторінок). Список використаних джерел включає 213 найменувань.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність теми досліджень, визначено наукову новизну та практичну цінність, сформульовано загальну мету і спрямованість роботи.

В першому розділі розглянуто питання, пов'язані з теорією іммобілізації біопрепаратів. Проаналізовано відомості щодо можливості використання органічних біополімерів природного або синтетичного поход-

ження як носіїв для іммобілізації біологічно-активних речовин. Проведено аналіз праць з проблем впливу іммобілізації на властивості антибіотичних та ферментних препаратів. Наведено дані про методи іммобілізації, з яких найбільш придатним для ліків є метод їх фізичної адсорбції на носіях. Охарактеризовано властивості ХВ, які зумовлюють доцільність їх використання як носіїв для іммобілізації, що мають власні детоксикаційні функції.

Грунтуючись на даних огляду літератури, прийшли до висновку про доцільність сорбції на ХВПВ поліпептидного антибіотика полімиксину (ПМ), ліполітичного фермента солізіму (С) та амілолітичного фермента  $\alpha$ -амілази(А) з метою підвищення стабільності та ефективності їх дії.

У другому розділі "Об'єкти та методи досліджень" викладено відомості про об'єкти, обладнання та методи досліджень.

Дослідження виконувались на кафедрі органічної хімії та проблемній лабораторії ОДАХТ, на Межирічському заводі вітамінів. Під час проведення експериментів використовувався комплекс сучасних фізико-хімічних, біохімічних, мікробіологічних методів досліджень. Наведено їх перелік.

Головними об'єктами досліджень були концентрат харчових волокон, вилучених з пшеничних висівок, антибіотики полімиксин М та полімиксин В виробництва Київського заводу медичних препаратів, ферменти: ліполітичної дії - солізім, амілолітичної дії -  $\alpha$ -амілаза виробництва Ладжинського заводу біопрепаратів, активований волокнистий вугільний матеріал "Дніпро МП" виробництва КНДІ проблем матеріалознавства.

Вивчення фізико-хімічних та біохімічних властивостей одержаного парафармацевтика КПАФ здійснювали згідно з розробленим методологічним підходом за допомогою методів термогравіметрії, ІЧ-спектроскопії, хемілюмінісценції, високошвидкісної рідинної хроматографії пептидів та білків, газо-рідинної хроматографії та інших методів аналізу.

При оптимізації технології виробництва парафармацевтика КПАФ користувались методом планування повного факторного експеримента з обробкою результатів на ЕОМ, а також традиційними методами математичного аналізу.

У третьому розділі "Іммобілізація антибіотиків групи полімиксинів і препарату ліполітичною активністю – солізіма на ХВПВ" наведені результати розробки умов адсорбції на ХВ полімиксинів В і М та солізіму. Адсорбцію виконували методом м'якого просочення ХВ водними розчинами (гідромодуль 3) досліджуваних речовин. Оптимальність умов сорбції оцінювали за збереженням активності препаратами при досліджених співвідношеннях мас речовин. Виявлено, що максимальну активність (98-99%) зберігає антибіотик при співвідношенні ХВ:ПМ=1:0.04(г); солізім зберігає 91% активності при співвідношенні ХВ:С=1:0.006(г). При аналізі

динаміки десорбції з ХВ антибіотиків та фермента (важливий фактор лікувально-профілактичної дії препаратів) встановлено, що в середовищі фізіологічної дії препарати зберігають високу активність (рис.1). Цей факт свідчить про значну пролонгацію дії іммобілізованих досліджуваних речовин порівняно з нативними.

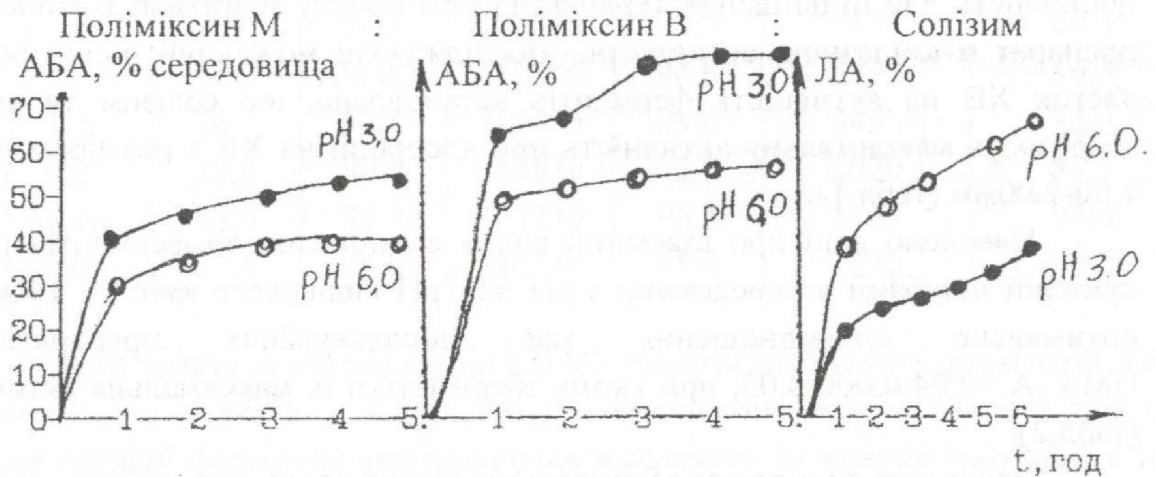


Рис. 1. Динаміка десорбції поліміксинів та солізіму з ХВ

Методом термогравиметрії встановлено, що іммобілізація поліміксинів зумовлена внеском в сумарну величину сорбції неспецифічних взаємодій, певно, внаслідок утворення гідрофільно-гідрофобних та водневих зв'язків між вільними ОН-групами носія і  $\text{NH}_2$ -групами антибіотику. Проте, аналіз диференціально-термічних кривих препарату ХВ + ПМВ виявив значне збільшення швидкості втрати їм маси в інтервалі температур 100-200 °С та 220-320 °С. Цей факт свідчить про неоднорідність препарату поліміксину В. Методом гель-фільтрації на носії для високошвидкої хроматографії на Superose-12 встановлено, що поліміксин М є однорідним препаратом з М.м. 2500 D; поліміксин В - складається з двох компонентів з М.м. 1900 D і 1000 D (Рис.2).

Встановлено, що на протязі 1.5 років іммобілізовані препарати зберігали свою активність.

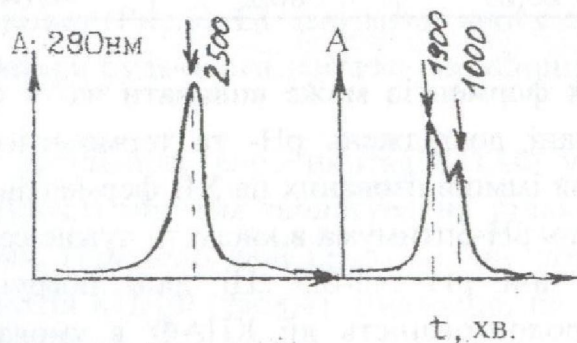


Рис.2. Гель-фільтрація ПММ та ПМВ на Superose 12

Сукупність отриманих даних дозволила обґрунтувати можливість використання метода адсорбції на ХВПВ антибіотика поліміксину М та ферментів для створення комплексного препарату з антибіотичними та ферментними властивостями.

У четвертому розділі "Отримання парафармацевтика у таблетованій формі з антибіотичними та ферментними властивостями" доведена доцільність для підвищення терапевтичного ефекту збагатити комплексний препарат  $\alpha$ -амілазною активністю. Досліджуючи можливий вплив розміру часток ХВ на активність ферментів встановлено, що солізим та амілаза зберігають максимальну активність при адсорбції на ХВ з розміром часток 1.00-2.00мм (табл.1).

Наведено дані про взаємний вплив антибіотика та ферментів при їх сумісній інкубації у середовищі з рН 6.0 (рН кишкового вмісту). Виявлено оптимальне співвідношення мас досліджуваних препаратів – ПМ:С:А=0.04:0.006:0.03, при якому зберігається їх максимальна активність (табл.2).

Сукупність цих даних обґрунтувала умови створення парафармацевтика КПАФ методом м'якого просочення ХВ водним розчином досліджуваних препаратів (ГМ 3,  $t_{20} \text{ } ^\circ\text{C}$ , 60хв.) при співвідношенні мас ХВ:ПМ:С:А=1:0.04:0.006:0.03. Препарат КПАФ містить 96.5% антибіотичної, 90.6% ліполітичної та 91.8% амілолітичної активностей.

Таблиця 1

Вплив розміру часток ХВ на активність іммобілізованих ферментів

Розмір часток ХВ, мм	Ліполітична активність		Амілолітична активність	
	од/г	збер. %	од/г	збер. %
< 0,25	26,53	73,7	3880	86,2
0,25...0,50	29,74	82,6	4253	94,5
0,50...1,00	32,69	90,8	4380	97,3
1,00...2,00	33,23	92,3	4443	98,7
> 2,00	28,87	80,2	4164	92,5

Іммобілізація ферментів може впливати на їх фізико-хімічні властивості. Наведено дані досліджень рН- та термооптимумів солізиму та  $\alpha$ -амілази (Рис.3). Для іммобілізованих на ХВ ферментів характерно поширення інтервалу значень рН-оптимума в кисле та лужне середовища: 98% активності зберігається при рН 6.5-8.5. Ці дані обґрунтовують підвищення стабільності та пролонгованість дії КПАФ в умовах організму людини. Дослідження активності препарату в модельних умовах шлунково-кишко-

Взаємний вплив поліміксина, солізіма та  $\alpha$ -амілази у розчині з рН 6.0 при різних співвідношеннях мас

Співвідношення мас ПМ:(С+А)	Ліполітична активність		Антибіотична активність		Амілолітична активність	
	од/г	% збер.	ОД	% збер.	од/г	% збер.
1 : 2	18,0	50,02	321550	95,7	2178	48,4
1 : 1	24,5	68,03	318525	94,6	2272	50,5
1 : 0,5	26,1	72,4	314495	93,6	3433	76,3
1 : 0,25	28,8	80,1	314830	93,7	3920	87,1
1 : 0,10	32,9	91,4	323230	96,5	4167	92,6
1 : 0,05	27,6	76,8	320540	95,4	2632	58,5

вого тракту встановило, що КПАФ зберігає активність ферментів після трьох годин інкубації у шлунковому та кишковому середовищах, в той час, коли нативні ферменти інактивуються вже після 30 хвилин інкубації в цих умовах (табл.3).

Таблиця 3

Ферментна активність (%) препарату КПАФ після інкубації в модельних умовах шлунково-кишкового тракту.

СЕРЕДОВИЩЕ	Час інкубації, год							
	0,5		1,0		2,0		3,0	
	ЛА, %	АА, %	ЛА, %	АА, %	ЛА, %	АА, %	ЛА, %	АА, %
шлунковий сік рН 2,1	62,21	78,5	55,53	69,4	34,67	52,3	32,8	48,5
жовч рН 7,0	32,0	45,5	25,63	40,0	24,62	35,1	14,07	28,07

Визначено, що іммобілізація ферментів значно не впливає на їх термооптимум та термостабільність. При підвищенні температури більш 50 °С ферменти інактивуються (Рис.3). Ці дані визначають деякі умови виробництва КПАФ: температура будь-якого процесу виробництва не повинна перевищувати  $+40 \pm 2$  °С.

Встановлено доцільність виробництва КПАФ у таблетованій формі. Технологічні властивості мас для таблетування підвищують за допомогою допоміжних речовин. Наведено дані щодо впливу допоміжних речовин на активність компонентів КПАФ (табл.4). Виявлено, що серед досліджуваних допоміжних речовин, більш доцільно використовувати полівінілпіролідон, введення якого до складу КПАФ не змінює активності його компонентів.

Таблетування проводили методом прямого пресування маси на таблетувальній машині при  $T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $P=10\text{ МПа.}$ , 10 хвилин. Таблетований КПАФ зберігає 96.3% антибіотичної, 81% ліполітичної та 85% амілолітичної активностей.

Таблиця 4

## Вплив допоміжних речовин на збереження активності КПАФ

Допоміжні речовини	Вміст у КПАФ, %	Активність КПАФ					
		ЛА, од/г	збер. %	АА, од/г	збер. %	АБА, ОД	збер. %
Цукор	2,5	6,5	18,1	472,5	10,5	303408	90,3
Крохмаль	1,5	3,7	10,2	351,0	7,8	309456	92,1
Na-КМЦ	3	17,3	48,0	2340,0	52,0	323568	96,3
ПВП	3,5	32,5	90,1	4113,0	91,4	323568	96,3

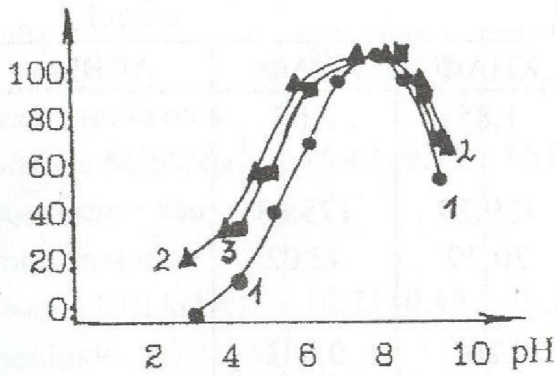
Досліджено фізико-хімічні властивості таблетованого КПАФ (Рис.3). Виявлено, що таблетування не впливає на рН- та термостабільність препарату; незначне зниження активностей ферментів може бути наслідком порушення їх  $\alpha$ -спиральної структури при пресуванні. Методом ІЧ-спектроскопії виявлено, що при таблетуванні має місце змінення зони поглинання, характерної для деформаційних коливань.

У п'ятому розділі "Препарати КПАФ як ентеросорбенти" наведено дані по дослідженню детоксикаційних властивостей КПАФ у порівнянні з традиційно використовуваним вугільним ентеросорбентом АВВМ "Дніпро МП". Виявлено, що таблетування значно поліпшує структурну характеристику сорбційної поверхні та підвищує (в 1.8 раз) величину водоутримаючої здатності (ВУЗ), що зв'язана з гідрофільними властивостями полімера (табл.5).

Ці результати обґрунтували необхідність дослідження сорбційних властивостей препарату КПАФ.

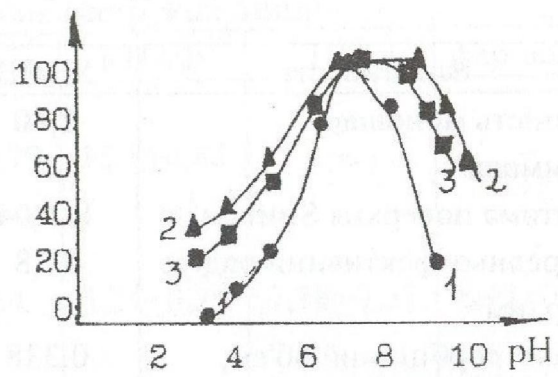
Встановлено, що біологічно-активні речовини не впливають на властивості ХВ зв'язувати токсини, проте ХВ сприяють збереженню стабільності ферментів під дією токсикантів. Виявлено, що досліджувані ентеросорбенти активно сорбують холевую кислоту, фенол та іони свинцю (табл.6). Таблетований КПАФ має більшу сорбційну здатність, порівняно з ХВ та АВВМ, стосовно до  $\text{Pb}^{2+}$ , мабуть внаслідок модифікування його поверхні при пресуванні таблеток, а також наявності у складі полівінілпіролідону. Враховуючи, що можливість використання вугільного сорбента у терапії досить обмежена, сукупність цих даних обґрунтовує можливість використання КПАФт як ентеросорбента при дії згаданих токсикантів.

ЛА, % від макс.



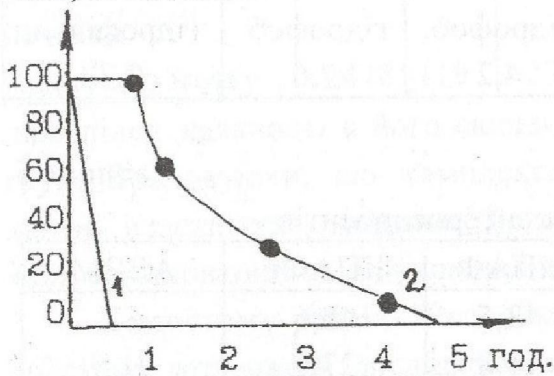
pH-оптимум ЛА нативного (1),  
імоб. (2) солізіму; КПАФт (3)

АА, % від макс.



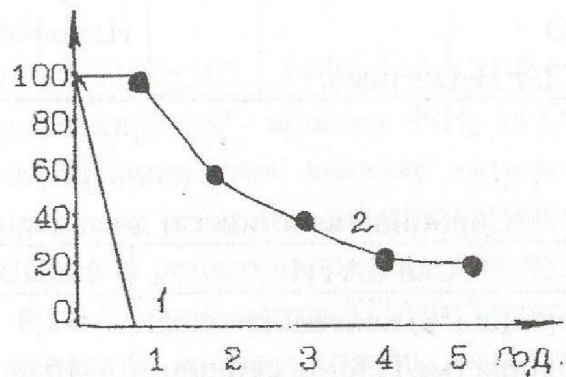
pH-оптимум АА нативної (1),  
імоб. (2) амілази; КПАФт (3)

ЛА, % від макс.



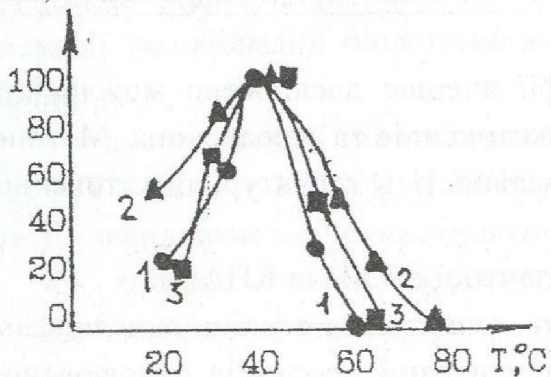
pH-стабільність ЛА в умовах  
рН 3.0, Т 37 °С нативного (1),  
імоб. (2) солізіму

АА, % від макс.



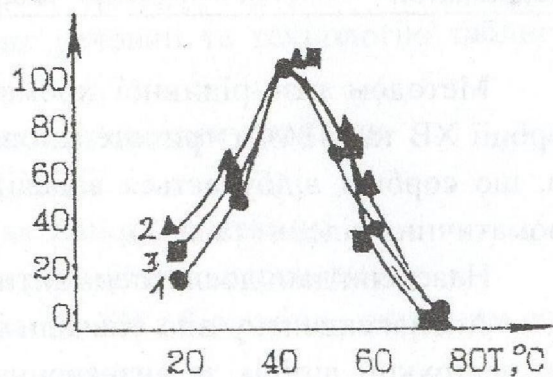
pH-стабільність АА в умовах  
рН 3.0, Т 37 °С нативної (1),  
імоб. (2)  $\alpha$ -амілази

ЛА, % від макс.



термооптимум ЛА нативного (1)  
імоб. (2) солізіму; КПАФт (3)

АА, % від макс.



термооптимум АА нативної (1),  
імоб. (2)  $\alpha$ -амілази; КПАФт (3)

Рис. 3. pH-термостабільність, pH-термооптими ферментів.

## Фізико-хімічна характеристика досліджуваних ентеросорбентів

Властивості	ХВПВ	КПАФ	КПАФт	АВВМ
Ємність моношару, а, ммоль/г	2,10	1,85	2,65	
Питома поверхня $S_{\text{пит}}$ , м <sup>2</sup> /г	134,04	129,23	175,63	
Середньоєфективний радіус пор, нм	37,8	30,29	42,02	
Макс. сорбційний об'єм, м <sup>3</sup> /г 10 <sup>-6</sup>	0,338	0,261	0,402	
Макс. ємність ммоль/г	18,77	20,2	28,01	
Коеф. гідрофільності	1,13	1,13	1,13	
Інтенсивність взаємодії з Н <sub>2</sub> О	слабо гідрофоб.	слабо гідрофоб.	слабо гідрофоб.	слабо гідрофільн.
ВУЗ, г Н <sub>2</sub> О/г преп.	4,2	4,2	7,6	0,72

Таблиця 6

## Сорбційні властивості досліджуваних ентеросорбентів

СОРБАТИ	ХВПВ	КПАФ	КПАФт	АВВМ
Сорбція (%) холевої кислоти	42,3	43,5	48,6	83
Сорбція (мг/г) іонів свинцю	16,6	15,8	27,6	21,5
Сорбція фенолу (мг/г)	21,2	20,3	21,5	24,9
Сорбція (%) мікотоксинів:				
Дезоксиніваленол	50,0		95,8	
Токсин Т-2	1,6		97,5	
Зеараленон	70,8		99,0	

Методом газо-рідинної хроматографії вперше досліджено можливість сорбції ХВ та КПАФт трихотеценових мікотоксинів та зеараленона. Можливо, що сорбція відбувається внаслідок наявності в структурі цих токсинів ароматичних кілець (табл. 7).

Наведено дані досліджень антиоксидантної дії ХВ та КПАФт.

Антиоксидантну дію вивчали *in vitro*, аналізуючи ступінь окислювальної деструкції ліпідів за визначенням концентрації продуктів окислювальної деструкції ліпідів за визначенням концентрації продуктів окислювання (малонового діальдегіду), реагуючих з тіобарбітуровою кислотою, а також методом хемілюмінісценції. Встановлено, що деструкція ліпідів значно зменшується при наявності у середовищі КПАФт та поліміксину (табл. 7).

Припускається, що обривання ланцюга утворювання вільних радикалів відбувається у результаті комплексовиформуючої активності КПАФт

## Антиоксидантна дія ХВ, КПАФт та біологічно-активних речовин

Дослід	Ступінь деструкції ліпідів				
	Контроль	ПВ	КПАФ	ПМ	ферменти
маслинова олія, нмоль МДА/см <sup>3</sup>	15,42±0,39	16,01±0,79	13,8±0,82	—	—
гомогенат тварин. тканин, нмоль МДА/1г:	10,21±0,49	9,3±0,54	5,21±0,29	7,18±0,33	8,49±0,27
печінки головного мозку	14,52±0,37	15,72±0,91	6,37±0,32	6,94±0,57	11,33±0,7
Надслабке сві- тіння, імп/100 сек.:	1298±63	1033±49	478±21	639±42	1113±72
печінки головного мозку	2478±119	2309±199	1192±103	1440±110	2108±135

внаслідок наявності в його складі "ступінів свободи"- вільних  $-NH_2$  та  $OH$ -груп. Враховуючи, що комплексний парафармацевтик виявляє антиоксидантні властивості, можливо його віднести до речовин-адаптогенів, вплив яких спрямований на підвищення неспецифічної резистентності організму.

У шостому розділі "Розробка технології виробництва КПАФт" наведено схему отримання досліджуваного препарату, органолептичні, механічні, фізико-хімічні властивості, відомості про виробничу апробацію розробленої технології.

З метою оптимізації окремих технологічних процесів виробництва КПАФт використовували методи математичного планування експерименту. Одержано рівняння регресії, які адекватно описують окремі технологічні операції іммобілізації біологічно-активних речовин та технологію таблетування:

- для технології змішування поліміксину, солізіму, амілази

$$Y = 32.47 + 2.07 X_1 + 1.34 X_2 - 1.11 X_1 X_2$$

де Y - заковане значення ліполітичної активності солізіму;

X<sub>1</sub> - заковане значення температури реакційного середовища;

X<sub>2</sub> - заковане значення часу змішування ХВ з біологічно активним розчином.

- для технології таблетування КПАФ:

$$Y_1 = 31.15 - 6.64 X_1 - 0.12 X_2 + 0.08 X_3 - 3.97 X_1 X_2 X_3$$

$$Y_2 = 8.37 - 3.91 X_1 - 0.07 X_2 - 0.04 X_3 + 2.48 X_1 X_2 X_3$$

де Y<sub>1</sub> - заковане значення ліполітичної активності солізіму;

Y<sub>2</sub> - заковане значення вологості таблеток;

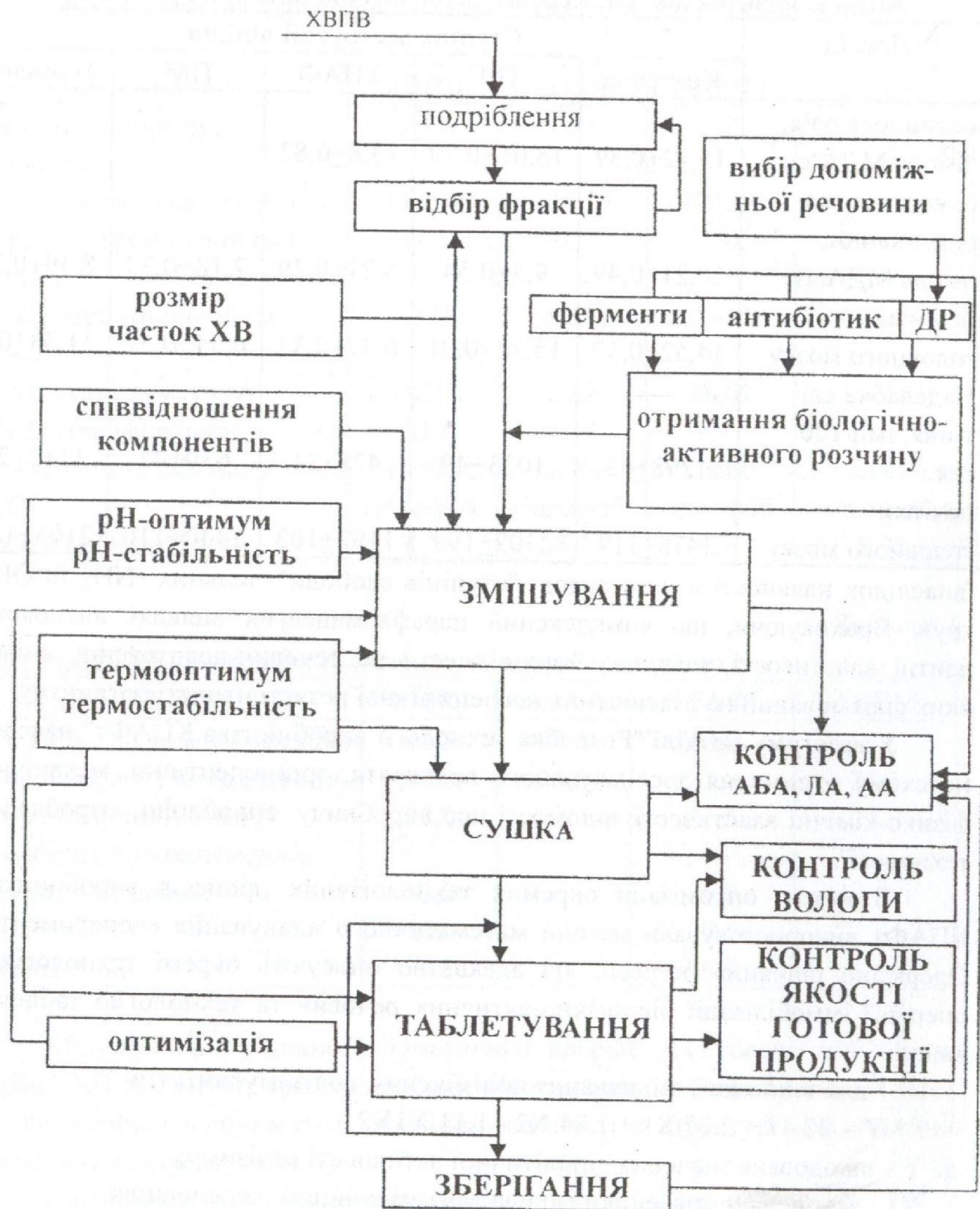


Рис. 4. Схема одержання КПАФ.

X1 - закодоване значення температури таблетування;

X2 - закодоване значення часу пресування;

X3 - закодоване значення тиску пресування.

Після обробки експериментальних даних на ЕОМ отримали значення параметрів (табл.8) оптимізації технології виробництва КПАФт.

Таблиця 8

Оптимальні значення параметрів моделі технології виробництва КПАФт

Процес	Координати оптимума						Значення вихідних параметрів у натуральному виразі	
	Наведене значення			Вихідне значення			ЛА, од/г	волога, %
	X1	X2	X3	T, °C	t, хв	P, мПа		
змішування	1,0	1,0	-	40	30	-	34,78	-
таблетування	-0,81	1,0	-1,0	34	5	9	33,72	-
таблетування	-1,0	0.0	-1,0	34	10	9	-	14,63

Експериментально отримані та математично розраховані значення технологічних параметрів було використано для розробки схеми виробництва (Рис. 4), виробничих випробувань та розробці науково-технічної документації.

## ВИСНОВКИ

1. Теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено доцільність іммобілізації антибіотика поліміксина М, ліполітичного фермента солізіма, амілолітичного фермента  $\alpha$ -амілази на харчових волокнах пшеничних висівок з метою отримання комплексної біологічно-активної добавки – парафармацевтика КПАФт.

2. Іммобілізація антибіотиків поліпептидної природи поліміксину М і В на ХВПВ методом м'якого просочення дозволяє зберігати 98 - 99% його активності на протязі 1,5 років. Методами фізико-хімічного аналізу встановлено, що іммобілізація ПМ обумовлена внеском до сукупної величини сорбції неспецифічних (гідрофільно-гідрофобних, водневих) взаємодій, внаслідок наявності у складі ПМ та ХВ вільних  $-NH_2$  та  $OH$ - груп.

3. Методами термогравіметрії та гель-фільтрації встановлено неоднорідність поліміксину В: до його складу надходять два компонента з молекулярними масами 1900 D і 1000 D; поліміксин М однорідний та має величину молекулярної маси 2500 D.

4. При соіммобілізації на ХВПВ антибіотика і ферментів з ліполітичною та амілолітичною активностями значно зберігається 96% антибіотичної, 91% ліполітичної, 93% амілолітичної активності. Встановлено,

що іммобілізація сприяє розширенню рН-оптимумів ферментів на 1 одиницю в кисле та лужне середовище і значно не впливає на термооптимум. Інтервал рН-оптимума солізму та  $\alpha$ -амілази становить 6.5-8.5. Ферменти не інактивуються при підвищенні температури до 50 °С.

Поширення рН-оптимума та рН-стабільності ферментів при іммобілізації зумовлює пролонгацію дії комплексного препарату у шлунково-кишковому тракті людини понад п'яти годин, препарат зберігає 14-26% ферментативної активності.

5. Отримана БАД-парафармацевтик з антибіотичною та ферментними властивостями у таблетованій формі. Встановлено, що допоміжна речовина для таблетування полівінілпіролідон не впливає на активність ПМ та ферментів. В таблетованому КПАФ зберігається 96,3% антибіотичної, 81% ліполітичної та 85% амілолітичної активності.

6. Розроблений препарат є ефективним ентеросорбентом: КПАФт сорбція холевої кислоти- 7,4 мг/г; іонів свинцю - 27,6 мг/г; фенолу - 21,5 мг/г; ВУЗ - 7,5 мгН<sub>2</sub>О/г. Вперше встановлено можливість адсорбції ХВ та препаратом КПАФт трихотеценових мікотоксинів дезоксиніваленолу, Токсину-Т2 та зеараленону.

7. Препарат КПАФт виявляє антиоксидантні властивості і являється адаптогеном, який сприяє підвищенню неспецифічної резистентності організму, внаслідок чого його можна віднести до неспецифічних радіопротекторів, що підтверджується результатами медико-біологічних дослідів.

8. Методом багатофакторного математичного планування експерименту одержані рівняння регресії, що адекватно описують технологію змішування БАВ та технологію таблетування КПАФ. Оптимальні значення параметрів оптимізації моделі технології виробництва КПАФт - для процесу змішування: час – 25-30хв., Т 40±2 °С; таблетування - Т=40 °, час 10 хв., Р=10 МПа.

9. Розроблена технологія реальна, що підтверджується результатами її апробації на Межирічському вітамінному заводі.

#### **Основний зміст роботи викладено в наступних публікаціях:**

1. Черно Н.К., Севастьянова О.В., Макаринська А.В. Одержання композиції з антимікробними та ферментними активностями на основі харчових волокон//Наукові праці ОДАХТ.-Вип.16.-Одеса, 1996.-С.119-126.

2. Черно Н.К., Севастьянова О.В., Воевудська С.В., Карацуба Н.Л., Макаринська А.В. Нова біологічно-активна добавка для корекції харчування//Наукові праці ОДАХТ.-Вип.17.-Одеса, 1997. С.106-112.

3. Черно Н.К., Севастьянова Е.В., Макаринская А.В., Никитина Ж.В. Продукты переработки зерна в лечебно-профилактическом питании// Проблеми та перспективи розвитку виробництва та споживання хлібопродуктів: Зб. наук. праць.-Т.1.-Одеса: ОДАХТ, 1997.-С.72-74.

4. Макаринська А.В., Севастьянова О.В., Черно Н.К., Воевудська С.В. Полімерні біосорбенти з іммобілізованими ферментами та антибіотиком як ентеросорбенти поліфункціональної дії//Наук. праці,ОДАХТ.-Вип.18.-Одеса,1998.-С.100-103.

5. Макаринская А.В., Титомир Л.А., Севастьянова Е.В., Озолина С.А., Черно Н.К. Новые биологически активные добавки с детоксикационными свойствами//Сб.науч.ст.Научные и практические аспекты совершенствования качества и экспертизы пищевых продуктов.-Одесса.-ОЦС,1998.-С.9-14.

6. Патент № 24865 А Україна, МПК 6А 61 К 9/20. Комплексний препарат на основі харчових волокон / Черно Н.К., Севастьянова Е.В., Макаринська А.В., Воевудська С.В., Краснобрижий М.Я. N 97126068; Заявл. 16.12.97; Опубл. 6.10.98.

7. Черно Н.К., Севастьянова Е.В., Макаринская А.В., Композиции на основе растительных клеточных стенок с антимикробной активностью// Тез. докл. Междунар. науч-практ. конф. "Энергоресурсосберегающие технологии переработки сельскохозяйственного сырья".- Минск: БНИ и КТИ мясной и молочной промышленности. -1996. -С.68.

8. Черно Н.К., Севастьянова О.В., Макаринська А.В., Карацуба Н.Л. Композиции с антимикробной активностью на основе растительных клеточных стенок// Тез. докл. 55 науч. конф. ОГАПТ. -Одесса. -С.254.

9. Макаринська А.В. Нова лікувально-профілактична добавка з підвищеною собційною активністю//Тез. доп. Міжнар. наук.-тех. конф. "Розробка та впровадження прогресивних ресурсощадних технологій та обладнання в харчову та переробну промисловість".-Київ: УДУХТ, 1997.-С.79.

#### АНОТАЦІЯ

*Технологія волоконної композиції*  
Макаринська А.В. Розробка парафармацевтика з антибактеріальною та ферментативною активністю. – Рукопис.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 - біотехнологія.- Одеська державна академія харчових технологій, Одеса, 1998.

Дисертацію присвячено питанням розробки біологічно активної добавки-парафармацевтика на основі харчових волокон лікувально-профілактичного призначення. Сукупність результатів теоретичних та експериментальних досліджень дозволила сформулювати наукові основи виробництва комплексного препарату з антибіотичними, ферментними та детоксикаційними властивостями. Досліджено можливість і методи іммобілізації на

харчових волокнах антибіотика, ліполітичного та амілолітичного ферментів, вивчено фізико-хімічні та сорбційні властивості нового комплексного препарату. Розроблена технологія одержання БАД. Отриманий продукт має ефективну лікувально-профілактичну цінність, передбачається його використання для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту.

Ключові слова: парафармацевтик біологічно-активна добавка, харчові волокна, поліміксин, солізим, амілаза, іммобілізація.

## АННОТАЦИЯ

### *Технология волокнистой композиции*

Макаринская А.В. ~~Разработка парафармацевтика~~ с антибактериальной и ферментативной активностями. – Рукопись.

Диссертационная работа на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Одесская государственная академия пищевых технологий., Одесса, 1998.

Диссертация посвящена вопросам разработки биологически активной добавки – парафармацевтика на основе пищевых волокон лечебно-профилактического назначения. Совокупность результатов теоретических и экспериментальных исследований позволили сформулировать научные основы производства парафармацевтика с антибактериальными, ферментными и детоксикационными свойствами. Исследованы возможность и методы иммобилизации на пищевых волокнах антибиотика, липолитического и амилаolitikого ферментов, изучены физико-химические и сорбционные свойства нового комплексного препарата. разработана технология получения БАД. Полученный парафармацевтик имеет эффективную лечебно-профилактическую ценность, предполагается его использование при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: парафармацевтик, биологически активная добавка, пищевые волокна, полимиксин, солизим, амилаза, иммобилизация.

## ANNOTATION

Makarynska A.V. The working out of parapharmaceuticals with antibiotic enzymic activities. – Manuscript.

The dissertation submitted for a Philosophic Doctor's degree in speciality of – 03.00.20 – biotechnology. The Odessa State Academy of Food Technologies, Odessa, 1998.

By the methods of physico-chemical analysis it was established, the PM immobilization is stipulated by the introduction in the total sorption value of nonspecific (hydrophilic-hydrophobic, hydrogen) interactions as a result of the presence of free-NH<sub>2</sub> and OH-groups in the structure of PMM and PMB.

By the thermogravimetry and gel-filtration methods the heterogeneity of polimixyne B is established: there are two components in its composition with molecular masses of 1900 D and 1000D; polimixyne M is homogeneous and has a value of molecular masses of 2500D.

Upon the antibiotic coimmobilization with lipolytic and amylolytic enzymes on WBFF, the activities are greatly preserved: 96% of antibiotal, 91% of lipolytic and 93% of amylolytic, respectively. It was established, that the enzymes immobilization favors for the broadening of pH-optima on 1 unit in acidic and alkaline area and slightly influences the thermooptimum. The pH-optimum interval of solizyme and  $\alpha$ -amylase is 6,5...8,5. The enzymes are not inactivated upon the increasing of temperature up to 50°C.

The composition with antibacterial and enzymatic activities in tableted form is obtained. It is established, that the auxiliary substance for tableting – polyvinyl pyrrolidone, does not influences the PMM and enzymatic activity. In the tableted complex antibiotic and enzymatic preparation (CAEP) there are preserved 96,3% of antibiotal, 84% of lipolytic and 85% of amylolytic activities, respectively.

The worked out composition is an effective enterosorbent: sorbtion of cholic acid – 7,4 mg/g; lead ions – 27,6 mg/g; phenol – 21,5 mg/g; water holding capacity (WHC) – 7,5 mg H<sub>2</sub>O/g.

The possibility of FF, CAEP, trichotecene mycotoxines, deoxynivalenol, toxin T-2 and zearalenon adsorbtion is established for the first time.

The tableted CAEP from manifests antioxidant properties and is an adaptogene, which favors the increasing of the organism unspecific resistance.

Using the mathematical multifactor planning method of the experiment, the regression equations are obtained, which adequately describes the technology of the biologically active substances (BAS) mixing and the technology of CAEP tableting.

The optimal parameters values for the optimized model of the CAEP production technology: for the mixing process – time 25-30 min.;  $t=40\pm 2^\circ\text{C}$ ; for the tableting process:  $t=40^\circ\text{C}$ ; time – 10 min.;  $P=10\text{Mpa}$ .

The worked out technology is approved in working conditions on the Mzhyrech vitamin plant. The obtained final product conforms to product-quality indices and normative – technological specifications. The normative-technical manuals are worked out.

The product obtained, possesses the effective medicinal-prophylactic value; its usage in gastric-intestinal diseases treatment is considered.

Key words: biologically active composition, food fibers, polimixin, solysim, amylase, immobilization.

№. В. 17327

