

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ім. О.В.БОГАТСЬКОГО**

**Данилова Олена Іванівна**

УДК 577.11/.12:635.65-035.22

**БІЛКОВОЛІГНОВУГЛЕВОДНИЙ КОМПЛЕКС  
БОБОВИХ ТРАВ**

02.00.10 - біоорганічна хімія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук

Одеса – 2001

Дисертацією є рукопис.

**Робота виконана** на кафедрі органічної хімії Одеської державної академії харчових технологій Міністерства освіти та науки України

**Науковий керівник** - доктор хімічних наук, професор **Дудкін Мар Сергійович**,  
Одеська державна академія харчових технологій,  
професор кафедри органічної хімії

**Офіційні опоненти:**

доктор хімічних наук, професор **Давиденко Тетяна Іванівна**, Фізико-хімічний інститут ім. О.В.Богатського НАН України, провідний науковий співробітник кандидат хімічних наук, доцент **Гришковець Володимир Іванович**, Таврійський національний університет ім. В.І.Вернадського Міністерства освіти і науки України, доцент кафедри органічної хімії

**Провідна установа** – Київський національний університет  
ім. Т.Г.Шевченка, кафедра органічної хімії

Захист відбудеться "24" травня 2001 р. о 12<sup>30</sup> на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.219.02 при Фізико-хімічному інституті ім. О.В.Богатського НАН України за адресою: 65080, м. Одеса, Люстдорфська дорога, 86.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Фізико-хімічного інституту ім. О.В.Богатського НАН України за адресою: 65080, м. Одеса, Люстдорфська дорога, 86.

Автореферат розісланий "20" квітня 2001 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради

кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник .

Литвинова Л.О.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Біополімери, що відіграють значну роль в процесах життєдіяльності, викликають підвищений інтерес у зв'язку з тим, що вони із своєю складною надмолекулярною будовою мають унікальні властивості, які ще недостатньо вивчені і дослідження у цієї області можуть призвести до корисних відкриттів. З використанням біополімерів та вивченням принципів їх функціонування можуть бути вирішені прикладні задачі в галузі хімії, медицини.

**Актуальність теми.** В кожному біологічному матеріалі закладено природні механізми, які сприяють стабілізації обмінних процесів в організмі і проблема полягає в тому, щоб знайти застосування широкому спектру оточуючих людину засобів, на основі біохімічних досліджень оцінити можливість та напрямок використання їх як ефективних складників в раціоні людини, що допомагають як запобігти ряду захворювань, так і лікувати їх засобами які завдяки біологічній спорідненості близькі до організму людини.

В останні роки перед людством постала проблема пошуку джерел біологічно активних композицій (БАК), які здатні поліпшити здоров'я людини, запобігти негативним наслідкам впливу несприятливих факторів навколишнього середовища, підвищити імунізаційні сили організму. При цьому необхідно, щоб нові БАК були фізіологічними, їх вплив на організм має бути м'яко-коригуючої спрямованості. Зараз в медицині розширюється сфера використання одного з таких видів БАК - харчових волокон (ХВ) для включення їх до лікувальних раціонів для поліпшення здоров'я населення. Пошук нових джерел ХВ набуває важливого значення і є одним з основних напрямків покращення структури харчування.

Попри те, що в останні роки в ряді робіт висвітлюється проблема споживання ХВ, їх вміст в різних харчових продуктах, все ж знання про реакції шлунково-кишкового тракту на різні види ХВ недостатньо повні і глибокі. Не завжди однозначними є отримувані результати, все це не дозволяє адекватно оцінити не тільки дію нових, нетрадиційних джерел ХВ, але й тих, які зараз широко використовують. Важливе місце в таких дослідженнях посідають вивчення будови, властивостей полісахаридів сировини, їх комплексів з лігніном, білками.

Білковолігновуглеводний комплекс (БЛВК) - це комплекс, здатний проявляти властивості БАК, до його складу входять природні біополімери: геміцелюлози, целюлоза, лігнін, білкові та пектинові речовини, пов'язані між собою водневими, ковалентними, гідрофобними, Ван-дер-Ваальсовими та іншими зв'язками. Оскільки біополімерний комплекс (БЛВК), виділений з бобових трав сприятливо впливає на стан хворих цукровим діабетом, виникає

необхідність більш детального дослідження як біополімерів вихідної сировини, так і біополімерів БЛВК, модифікованих в процесі виділення, характеру зв'язків між ними та впливу на організм.

Через це, вивчення первинної структури біополімерів цієї сировини, їх властивостей, взаємозв'язку між ними, є важливим як з теоретичної точки зору, так і для більш ефективного комплексного використання в харчових і лікувальних цілях.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження виконані відповідно до цільових програм "Створення наукових основ перетворення нетрадиційної рослинної сировини в лікувально-профілактичні продукти харчування з збільшеним вмістом білку, харчових волокон" номер держреєстрації 0194 U 0035336, категорія 1 (1994-1996 рр.) та "Розробити концепцію перетворення нетрадиційної рослинної сировини в харчові продукти" номер держреєстрації 0197 U 016058 (1996-1999 рр.).

**Мета і задачі дослідження.** Метою дисертаційної роботи є теоретичне обґрунтування можливості виділення білковолігнуглеводних комплексів (БЛВК) з бобових трав і експериментальне підтвердження біологічної цінності комплексів.

Згідно з поставленою метою необхідно було вирішити наступні задачі:

- отримати біологічно активні комплекси з бобових трав шляхом вибору оптимального методу, виділити біополімерні комплекси та дати їх характеристику;
- вивчити фізико-механічні та фізико-хімічні, в тому числі, сорбційні, властивості біополімерних комплексів;
- провести медично-біологічні дослідження білковолігнуглеводних комплексів як лікувально-профілактичних композицій;
- визначити шляхи використання білковолігнуглеводних комплексів;
- дати характеристику біохімічного складу, будови біополімерів бобових трав: люцерни, конюшини, галеги лікарської;
- провести фракціонування біополімерів, які входять до складу комплексів у порівнянні з біополімерами вихідної сировини.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Визначені оптимальні умови виділення білковолігнуглеводних комплексів. Вивчено біополімерний склад БЛВК, їх фізико-механічні та фізико-хімічні властивості. Проведено фракціонування біополімерів бобових трав та БЛВК. Вперше проведено порівняння представників родини бобових: люцерни, конюшини, галеги - досліджено біохімічний склад, виділені та охарактеризовані біополімери. Дана санітарно-епідеміологічна оцінка БЛВК. Здійснено медично-біологічні дослідження БЛВК, на основі яких зроблено висновки:

- про можливість використання їх як лікувально-профілактичних засобів, ефективно знижуючих рівень глюкози в сироватці крові при захворюванні на цукровий діабет;
- про вплив на ліпідний обмін та обґрунтовано використання їх при захворюванні гепатитом;
- про використання БЛВК люцерни як засобу з радіопротекторними властивостями.

**Практичне значення одержаних результатів.** Робота має науково-практичний характер. Здійснено апробацію технології отримання БЛВК та композиційних добавок на їх основі в дослідно-промислових умовах. Отримані зразки продуктів харчування з введенням БЛВК в промислових умовах на Одеському комбінаті харчових концентратів. На основі проведених досліджень розроблені методи вивчення функціонально-технологічних та фізіологічних властивостей харчових волокон. Запропоновані кількісні характеристики для оцінки впливу ХВ на обмінні процеси в організмі людини. Запропоновані методи оцінки сорбційної здатності БЛВК. Подано п'ять заявок на винаходи і отримано два патенти України.

**Особистий внесок.** Визначення завдання досліджень, проведення аналітичної і експериментальної роботи в лабораторних і виробничих умовах, постановка експерименту, аналіз і узагальнення наукових результатів, формулювання висновків і пропозицій, підготовка результатів досліджень до друку, розробка і участь у впровадженні нормативної документації зроблені здобувачем особисто. Медично-біологічні дослідження проводили під загальним керівництвом д.м.н. проф. Грубніка В.В. у віварії Одеського державного медичного університету, радіопротекторні властивості комплексів вивчали в Науковому центрі радіаційної медицини (м.Київ) під керівництвом д.м.н. проф. Корзуна В.Н.

**Апробація роботи.** Основні результати дисертації доповідалися на 26 міжнародних і Республіканських конференціях та семінарах, у тому числі: "Экология человека, проблемы и состояние лечебно-профилактического питания" (П'ятигорськ, 1993 р.), "Медико-біологічні аспекти розробки продуктів харчування" (Київ, 1993 р.), на Одеській обласній науковій конференції, присвяченій морфології, патології і клініці травлення (1993 р.), на Шостому міжрегіональному науково-виробничому семінарі "Кормовые в т.ч. нетрадиционные и лекарственные растительные ресурсы - фактор стабилизации регионального производства кормов, пищевых и лекарственных растений" (Москва, 1993 р.), на Першому Європейському Symposium on Industrial Crops and Product (France, Reims, 1996 р.), на конференціях: "Екологія і здоров'я людини, охорона повітряного і водного басейнів. Утилізація відходів". (Україна, Крим, м.

Щолкіно, 2000 р.), "Вчені України - вітчизняній фармації" (Харків, 2000 р.) "Ліки-людині" (Харків, 2000 р.) на наукових конференціях ОДАХТ в 1993-2000 рр. та ін.

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 6 статей, отримано 2 Патенти України та тези 5 доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається із вступу, огляду літератури, трьох експериментальних розділів, висновків, списку використаних джерел (181 найменування) і додатків. Матеріал викладено на 284 сторінках, з яких 149 відведено додаткам, бібліографії, великим рисункам і таблицям. Текст включає 60 таблиць та 27 рисунків.

У вступі обґрунтовано актуальність роботи, сформульовані мета і задачі дослідження. Перший розділ дисертації містить літературний огляд основних знань про біохімічний склад, будову та властивості біополімерів бобових трав, властивості біополімерного комплексу (харчових волокон) з різноманітної рослинної сировини. У другому розділі - "Об'єкти та методи дослідження" описано об'єкти досліджень - бобові трави: люцерна (*Medicago sativa*), конюшина (*Trifolium pratense*), галега лікарська (*Galega officinalis*) та відзначено, що всі результати біохімічних досліджень проведених з рослинами, котрі вирощені в період 1992-1999рр., опрацьовували за допомогою методів математичної статистики. Описано методи аналізу біохімічного складу, фракціонування біополімерів. Наступні розділи присвячені дослідженню складу та будови біополімерів вихідної сировини - бобових трав (розділ 3) та виділенню білковолігнуглеводних комплексів (БЛВК), вивченню їх складу, будови біополімерів, вивченню властивостей БЛВК (розділ 4). У додатки винесено акти медично-біологічних, санітарно-гігієнічних досліджень та апробації технології у виробничих умовах.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### Біохімічний склад та будова біополімерів

Аналіз біохімічного складу (табл.1) довів, що всі вивчені бобові трави вміщують значну кількість вуглеводів, білкових і мінеральних речовин.

Завдяки фракціонуванню біополімерів з'ясовано, що вуглеводні комплекси бобових трав представлені водорозчинними полісахаридами (пектином, геміцелюлозами) та целюлозою. До складу водорозчинних полісахаридів бобових трав входить набір залишків моносахаридів характерний для рослинної сировини. Між тим, кількість їх різна. В гідролізатах полісахаридів, виділених холодною водою, переважають уронові кислоти, а у фракціях, виділених гарячою водою - нейтральні цукри - арабіноза (Ara), галактоза (Gal), рамноза (Rha). Крім того, присутні глюкоза (Glc), рибоза (Rib), ксилоза (Xyl), маноза (Man), фруктоза (Frc),

сорбоза (Sor). В гідролізатах люцерни знайдена фукоза (Fuc), а у гідролізаті галеги неідентифікований цукор, за хроматографічною рухомістю близький до 2-О-метилксилози.

Таблиця 1 **Біохімічний склад бобових трав та біополімерних комплексів**  
(в масових частках (%) від абсолютно сухої наважки)

Компоненти	1	2	3	4	5	6
Пектинові речовини	8,50±0,08	6,00±0,05	8,80±0,08	6,70±0,06	5,20±0,04	6,40±0,06
Крохмаль	4,60±0,04	5,90±0,05	3,90±0,04	—	—	—
Геміцелюлози	25,50±0,12	25,30±0,14	18,10±0,13	22,60±0,13	23,80±0,13	19,80±0,14
Целюлоза	19,10±0,14	20,00±0,12	16,30±0,11	26,40±0,15	29,70±0,14	33,40±0,17
Лігнін	12,30±0,11	13,40±0,11	11,30±0,10	16,80±0,11	18,00±0,12	16,70±0,12
Загальний азот	2,04±0,02	2,10±0,01	3,22±0,03	2,89±0,01	2,42±0,01	3,76±0,03
Білок	12,80±0,10	13,60±0,10	20,13±0,10	18,10±0,11	15,10±0,13	23,50±0,11
Зола	5,70±0,05	4,10±0,04	7,30±0,05	6,60±0,04	5,40±0,04	7,10±0,06

Примітка: 1 - надземна частина люцерни, 2 - надземна частина конюшини, 3 - надземна частина галеги, 4 - БЛВКЛ, 5 - БЛВКК, 6 - БЛВКГ

Геміцелюлози подані як суміш полісахаридів, серед яких домінують ксилани. Основний, найбільш довгий ланцюг глюкуроноксиланів бобових трав складається з залишків D-Xyl, по другому атому вуглецю яких  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 глікозидним зв'язком приєднані залишки D-глюкуронової кислоти (D-GlcUA) у піранозній формі через кожні 10-11 залишків D-Xyl у випадку люцерни і через 13-14 залишків D-Xyl у випадку конюшини і галеги.

Основою макромолекули пектинових речовин бобових трав є фрагмент, побудований з залишків D-GalUA, пов'язаних в середньому через кожні 10 залишків альфа-глікозидним зв'язком з  $\alpha$ -рамнозильними ланцюгами, що утворюють V-сформовані точки розгалуження, до яких приєднані нейтральні моносахариди: Ara, Gal, Xyl, Fuc. За вмістом функціональних груп (вільні -COOH (12,1-15,4%), етеріфіковані карбоксильні (7,7-9,0%), метоксильні (5,3-6,0%) та ацетильні групи (2,3-2%) досліджені протопектини майже не відрізняються.

Целюлоза бобових трав являє собою поліглюкан, у якому залишки глюкози з'єднані між собою  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-глікозидними зв'язками. Гранична ступінь полімерізації (ГСП) для целюлози люцерни складає 49,4, конюшини - 48,4, галеги - 48,4. Довжина кристалітів - 25,4 нм (люцерни), 24,9 нм (конюшини), 24,9 нм (галеги).

У білкових речовинах бобових трав превалюють глобуліни (табл.2), всі незамінні амінокислоти, крім сірковмісних, містяться в достатній кількості (табл.3). Крім того, наявність вільних карбоксильних груп, гідроксильних і аміногруп дозволяє позитивно оцінити внесок білкових речовин до сорбційних, в тому числі, і детоксикаційних процесів в організмі при введенні композицій, з вмістом білку 16-18%, до раціону людей.

Таблиця 2 Білкові речовини бобових трав (в масових частках, %)

Зразок	Загальний азот	"Сирий" протеїн	Білковий азот:			Небілковий азот
			загальна кількість	у тому числі:		
				альбуміни	глобуліни	
1	2,04±0,01	12,80±0,06	1,48±0,01	0,29±0,01	0,89±0,02	0,56±0,04
2	2,17±0,02	13,60±0,06	1,57±0,01	0,30±0,01	0,92±0,03	0,60±0,02
3	3,22±0,03	20,13±0,08	2,37±0,02	0,55±0,01	1,47±0,03	0,85±0,03

Примітка: 1 – білкові речовини люцерни; 2 – білкові речовини конюшини; 3 – білкові речовини галеги

Таблиця 3 Амінокислотний скор білкових речовин (в масових частках (%) від стандарту ФАО / ВОЗ)

Назва амінокислоти	Стандарт*	Скор у порівнянні з стандартом**:					
		1	2	3	4	5	6
Лізин	5,5	94,73	93,64	95,09	126,55	137,82	139,09
Треонін	4,0	191,5	201,25	130,25	115,25	137,75	138,5
Валін	5,0	202,20	147,60	162,60	133,00	114,00	117,80
Ізолейцин	4,0	121,25	102,75	141,75	143,75	115,00	108,75
Лейцин	7,0	127,86	105,43	112,43	144,29	136,00	141,43
Тирозин + фенілаланін	6,0	165,00	101,00	109,83	134,87	155,53	139,00
Метіонін + цистин	3,5	60,57	60,00	64,29	70,57	67,14	77,71
Триптофан	1,0	165,00	191,00	297,00	116,00	148,00	245,00

Примітки: \* Стандарт ФАО / ВОЗ

\*\* білкові речовини — 1 – люцерни, 2 – конюшини, 3 – галеги, 4 – БЛВК люцерни, 5 – БЛВК конюшини, 6 – БЛВК галеги

В лігнінах бобових трав присутні всі три типи структурних одиниць, характерних для цих біополімерів: п-кумарові, за рахунок яких утворюються п-оксибензальдегід і п-оксибензойна кислота; гваяцилові, за рахунок яких здійснюється утворення ваніліну, ацетованілону, ферулової і ванілінової кислот; сирінгілові, відповідні за утворення бузкового альдегіду, синапової і бузкової кислот. Наявність карбоксильних, карбонільних, гідроксильних, фенольних угруповань сприяє активізації сорбційної здатності комплексу, у складі якого як компонент є лігнін.

Оскільки в бобових травах значний вміст таких компонентів як целюлоза, білок, лігнін, протопектин, можливим стає виділення біополімерних комплексів - білковолігновуглеводних комплексів (БЛВК), які можливо використати як БАК.

#### Білковолігновуглеводний комплекс

Виділення біополімерного комплексу (БЛВК) здійснювалось у два етапи (рис. 1). На першому - вели екстракцію органічним розчинником сапонінів,

глікозидів, алкалоїдів, на другому - м'який гідроліз з використанням сірчаної кислоти низьких концентрацій. Пошук оптимального методу виділення проводили з використанням методів планування експерименту і методів математичної статистики. Розроблено поетапну схему виділення БЛВК (рис. 1), визначено біохімічний склад комплексів (табл. 1). З'ясовано, що полісахаридний комплекс БЛВК складає понад 50% від загального хімічного складу і відрізняється високим вмістом структурних вуглеводів: протопектину, геміцелюлоз (ГМЦ), целюлози (Ц). Комплекс галеги (БЛВКГ) має вищу ніж комплекс конюшини (БЛВКК) і люцерни (БЛВКЛ) кількість азотистих речовин, за вмістом лігніну і зольних речовин комплекси незначно відрізняються. Вільні цукри, екстрактивні речовини в них відсутні, вміст легкогідролізуємих полісахаридів в БЛВКГ нижче, ніж у БЛВКК і БЛВКЛ.

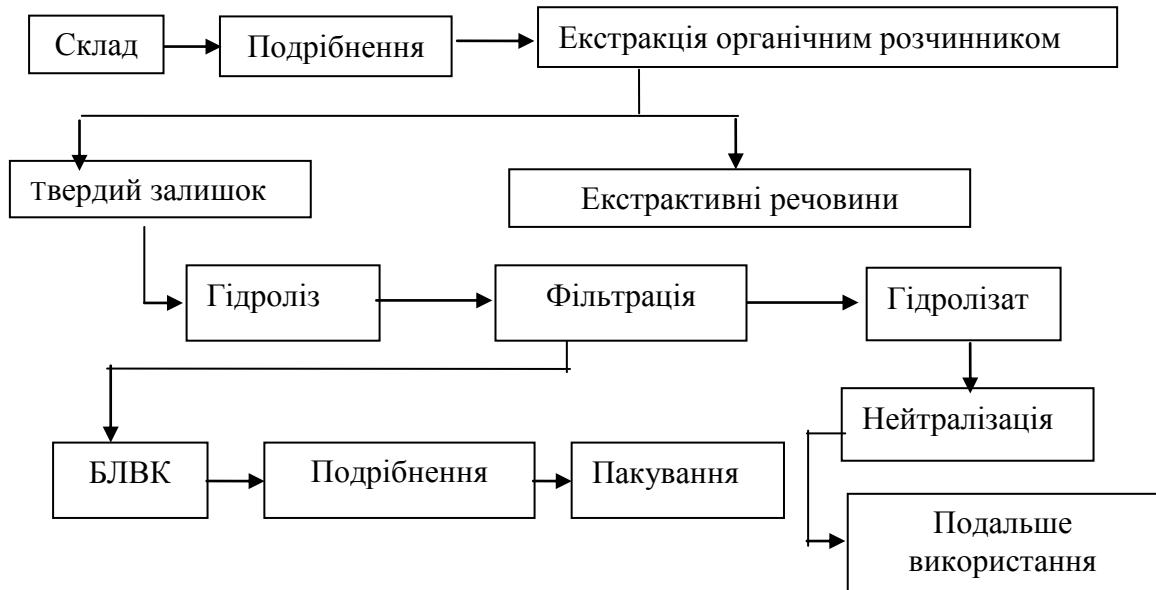


Рис.1. Поетапна схема отримання білковолігновуглеводних комплексів бобових трав.

Особливістю біохімічного складу БЛВК бобових трав є високий (до 18-20%) вміст білкових речовин, для порівняння - у стандартному препараті харчових волокон пшеничних висівок (ХВПВ) білка 12%.

За допомогою сучасних методів ГРХ-аналізу, ІЧ-, УФ-, ЯМР-спектроскопії, гель-хроматографії та ін. з'ясовані склад та первинна структура біополімерів вихідної сировини і проведено порівняння з біополімерами БЛВК.

З'ясовано, що у протопектинів БЛВК молекулярна вага нижче (11500-12500), ніж у препаратів вихідної сировини (13000-14500), що пов'язано з відщепленням бокових ланцюгів моносахаридів в процесі виділення БЛВК. Фракціонування препаратів протопектинів на ДЕАЕ-целюлозі підтвердило, що ці препарати є гетерогенними. Визначено кількість функціональних груп (карбоксильних (від 14,3% до 19,5%), метоксильних (від 7,4% до 10,0%), ацетильних (від 2,7% до 3,4%). З'ясовано, що за якісним моносахаридним складом препарати ідентичні,

завдяки відщепленню бокових ланцюгів йде кількісний перерозподіл моносахаридів, збільшується кількість галактуронової кислоти, зменшується ступінь метоксилювання, збільшується кількість вільних карбоксильних груп, що сприяє збільшенню сорбційної здатності БЛВК. Аналіз полігалактуронана дозволив визначити, що основний ланцюг галактуронану залишається без змін, його складено з залишків D-галактуронової кислоти та D-Rha, поєднаних між собою ( $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 4) - глікозидним зв'язком, про що свідчать дані ІЧ-спектроскопії та ферментолізу пектиназою.

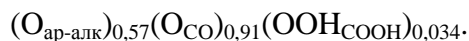
Геміцелюлози (ГМЦ) БЛВК являють собою складні комплекси, як і в випадку вихідної сировини їх формують: D-Xyl, D-Gal, D-Glu, D-GlcUA і L-Ara. В ІЧ-спектрах препаратів присутні характеристичні для препаратів ГМЦ смуги поглинання.

Виділені препарати целюлоз (Ц) БЛВК, визначена їх молекулярна вага (граничний ступінь полімерізації від 620 до 850), з'ясований вміст фракцій: аморфної 6,5-8,7%, мезаморфної від 8,4% (БЛВКГ) до 11,7% (БЛВКК), кристалічної - 86-87%. В препаратах целюлоз з БЛВК вміст аморфної фракції трохи вищий, ніж в целюлозах сировини, що сприяє збільшенню сорбційної здатності. За всіма іншими показниками Ц бобових трав і БЛВК близькі до препаратів Ц з іншої рослинної сировини.

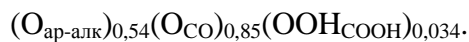
Виділені білкові речовини БЛВК, визначений їх амінокислотний склад. Кількість незамінених амінокислот складає майже половину від усієї кількості амінокислот. Розраховано амінокислотні скори за шкалою, рекомендованою ФАО/ВОЗ (табл.3), які свідчать, що лише сірковмісні амінокислоти є лімітуючими. Якісний склад амінокислот не відрізняється від вихідної сировини, але співвідношення їх за рахунок перерозподілу фракцій відрізняється від вихідної сировини. З'ясовано, що перетравлюваність білка в системі пепсин : трипсин : хімотрипсин складає біля 70%. Отримані результати свідчать про високу біологічну цінність білка бобових трав та БЛВК.

На основі результатів елементного та функціонального складів з урахуванням вмісту пірокатехінових груп і арил-арильних зв'язків були розраховані емпіричні формули лігнінів (ДЛ) БЛВК на елементарну ланку  $C_9$ , при цьому враховували наявність вуглеводів. Розраховано також молекулярну вагу фенілпропанової структурної одиниці.

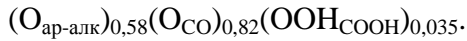
Для ДЛ БЛВКЛ молекулярна вага (Mг) структурної одиниці 191,06.



Для ДЛ БЛВКК Mг структурної одиниці 188,66.



Для ДЛ БЛВКГ Мг структурної одиниці 189,31.



З формул видно, що в препаратах ДЛ БЛВК кількість пірокатехінових груп зменшується з 0,17/C<sub>9</sub> до 0,13/C<sub>9</sub> і до 0,11/C<sub>9</sub> в ряду БЛВКЛ : БЛВКК : БЛВКГ. У порівнянні з діоксанлігнінами трав молекулярна вага зменшується на 10,7%, 7,0%, 13,0% відповідно для препаратів з люцерни, конюшини, галеги, поряд з цим, збільшується кількість гідроксильних і карбоксильних груп як аліфатичної так і ароматичної частини молекули. Одночасно з ростом кількості фенольних гідроксилів збільшується й кількість карбоксильних груп (з 6 % до 7 %). Таким чином, аналіз лігнінних речовин БЛВК довів, що в препаратах БЛВК збільшується кількість карбоксильних груп і відбувається зменшення кількості метоксильних груп, що сприяє збільшенню сорбційної здатності.

### Властивості БЛВК

#### Фізико-хімічні властивості

Визначено структурні характеристики БЛВК та основні властивості БЛВК: катионо- і аніонообмінні, з'ясовано величини обмінних ємностей і сорбційні характеристики. Для БЛВК характерна більш розвинута поверхня, ніж у вихідній сировини (рис.2, табл.4), про що свідчить збільшення питомої поверхні і середнього ефективного радіуса пор.

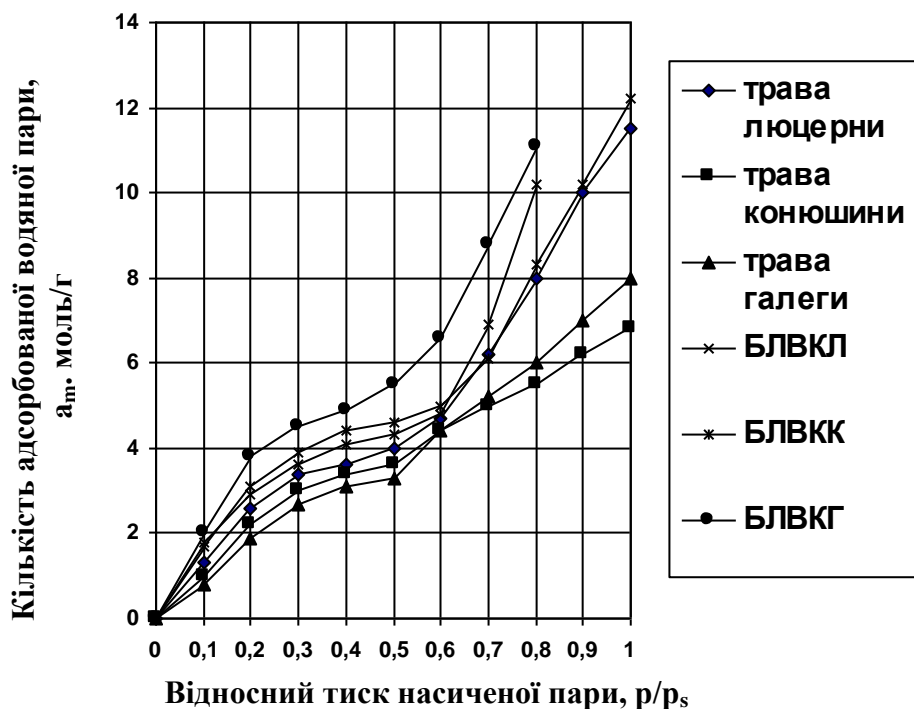


Рис.2. Ізотерми сорбції пари води.

Ємність моношару також вище у БЛВК. Більш низькі значення її у вихідній сировини можуть бути результатом процесів внутрішньої адсорбції компонентів (ГМЦ, пектинових речовин і ін.) на поверхні моношару. Найменша величина питомої поверхні у вихідній сировини і ХВПВ. У відповідності з розрахунками

найбільші розміри мають пори ХВПО, потім - БЛВКК, БЛВКЛ, БЛВКГ. Отже, у порівнянні з вихідною сировиною, граничний сорбуємий об'єм БЛВК збільшився в 1,1-1,2 рази, а середній ефективний радіус пор - в 1,1 рази, що призводить до збільшення сорбційної здатності препаратів.

Таблиця 4 Структурні характеристики сировини (бобових трав) та БЛВК

Проба	Ємність моношару $a_m$ ммоль / г	Питома поверхня $S_{шт}$ , м <sup>2</sup> / г	Максимальний об'єм $V \times 10^{-6}$ , м <sup>3</sup> / г	Середній радіус пор $r \times 10^{-10}$ м
БЛВКЛ	2,4±0,01	158,50±0,07	0,332±0,002	32,78±0,02
БЛВКК	2,3±0,02	151,90±0,06	0,322±0,003	31,15±0,03
БЛВКГ	2,4±0,02	158,60±0,08	0,333±0,002	31,80±0,03
ХВПВ	1,7±0,02	134,07±0,05	0,172±0,001	37,82±0,02

Максимальна катіонообмінна ємність БЛВК бобових трав лежить в інтервалі 1,7-2,3 мекв/г. При цьому вони в 1,3-1,7 рази перевищують катіонообмінну здатність ХВПО (1,35 мекв/г). Здатність препаратів до катіоно- та аніонообміну є інтегральною величиною, що залежить від походження утримуваних іоногенних груп, та від ступеня їх іонізації оточуючими фрагментами біополімерів. Велика кількість різних іоногенних груп в БЛВК утруднює їх ідентифікацію. Можливо лише з великим ступенем припущення віднести групи з  $pK_a$  7,1-7,7 до карбоксилів залишків уронових кислот в пектині і геміцелюлозах, з величиною  $pK_a$  8,9-10,44 - до фенольних гідроксилів. Наявність угруповань з  $pK_a$  3,8-5,3, характерна для пектину, з  $pK_a$  8,15-8,75 відповідає сульфогрупам амінокислот. Максимальна ємність обміну дорівнює: для БЛВКЛ 1,69 мекв/г, БЛВКК 2,07 мекв/г, БЛВКГ 2,30 мекв/г. Порівнюючи значення  $pK_a$  кислотних груп, що є в БЛВК, необхідно відзначити, що місцезоташування максимумів на диференціальних кривих потенціометричного титрування, що відповідає конкретним групам, практично залишається незмінним для всіх комплексів. При вивченні основних властивостей препаратів знайдено лише одне невелике збільшення значень в усіх зразках. Вміст функціональних груп в БЛВК бобових трав незначно відрізняється, хоча уявні значення  $pK_b$  однакові в усіх випадках і дорівнюють 2,05. Їх можливо віднести лише до аміногруп білка, наявного в препаратах.

Таким чином, маючи властивості амфолітів, БЛВК можуть функціонувати як м'який регулятор величини рН різних внутрішніх середовищ.

#### Біологічна цінність

З'ясовано сорбційну здатність БЛВК стосовно деяких метаболітів організму і сорбційні ємності щодо різних екологічно небезпечних речовин (ЕНР) (табл.5). При цьому досліджували кінетику процесу сорбції при різних температурах і концентраціях адсорбату.

При сорбції БЛВК має місце не тільки зворотна фізична сорбція, але й

хімічна, дослідження сорбційної здатності компонентів БЛВК довело, що у випадку лігніну та целюлози здійснюється як фізична, так і хімічна адсорбція, а у випадку пектинових речовин, білка і, меншою мірою, геміцелюлоз, хімічна сорбція переважає над фізичною. Адсорбційні комплекси відрізняються високою стійкістю, що трохи змінюється в залежності від величини рН і іонної сили. Зіставлення даних з сорбції метаболітів організму з модельних розчинів і фізіологічних рідин, показало, що БЛВК бобових трав є м'якими фізіологічними сорбентами, здатними виводити з організму токсичні речовини різного походження.

Таблиця 5 Сорбційна ємність біополімерних комплексів бобових трав стосовно іонів металів і ряду екологічно шкідливих речовин

Адсорбент	Сорбційні ємності, $x \cdot 10^{-2}$ $x \pm S_x$ $S_x = 0,05$								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
БЛВКЛ	2,8	5,2	1,45	5,2	1,9	4,7	1,4	5,7	5,5
БЛВКК	2,8	4,8	1,45	5,3	2,5	4,8	1,8	6,8	6,6
БЛВКГ	2,5	6,4	1,49	5,6	2,2	4,5	1,4	5,9	5,6

Примітка: 1 – іони  $Pb^{2+}$ , 2 – іони  $Cd^{2+}$ , 3 – іони  $Ca^{2+}$ , 4 – іони  $Fe^{3+}$ , 5 – фенол, 6 – карбамід, 7 – формальдегід, 8 – іони  $NO_3^-$ , 9 – іони  $NO_2^-$

Отже, вивчення фізико-хімічних властивостей БЛВК бобових трав довело, що отримані препарати проявляють функціональні ознаки харчових волокон, в той же час ці препарати досить специфічні, що пов'язано з особливостями їх хімічного складу, а саме, високим вмістом білкової компоненти, волокниста компонента в цьому випадку надає білку додаткову стійкість.

Визначено радіопротекторні властивості БЛВКЛ та композицій на їх основі. З'ясовано, що вони мають значний вплив на динаміку накопичення стронцію-85 та виведення цезію-137 (рис.3).

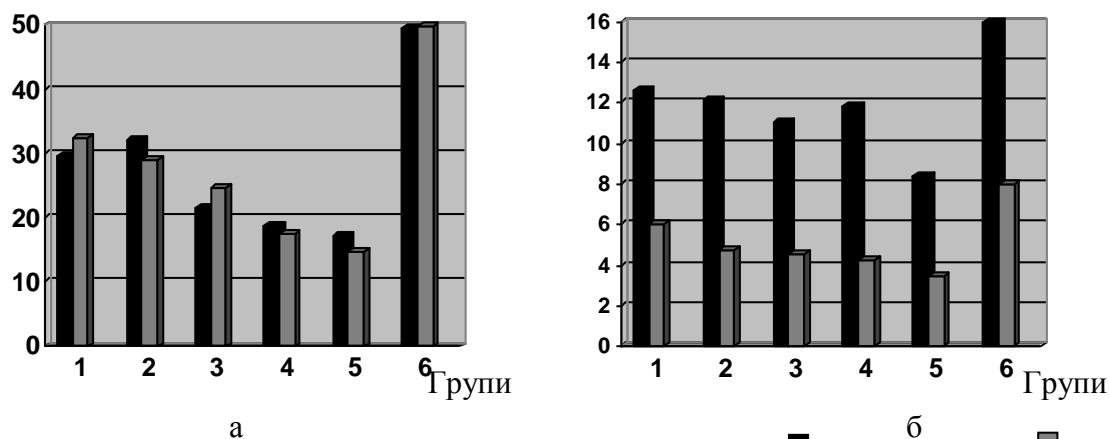


Рис. 3. Накопичення (а) і виведення (б) цезію  $^{137}Cs$  та стронцію-85 в організмі щурів в залежності від введення в раціон композицій: 1- БЛВКЛ, біополімерів люцерни; 2- холоцелюлоза; 3- целолігнін; композиції на основі БЛВКЛ з введенням: 4 - дріжджів; 5- мікроелементів; 6- контроль на віварійному раціоні.

Дані радіометричних досліджень вмісту радіоактивного цезію в організмі щурів під впливом БЛВКЛ та композицій на їх основі представлені на рис.3. У

тварин контрольної групи за 30 днів дослідження вміст радіоактивного цезію в організмі склав  $1280 \pm 62$  Бк. У тварин дослідних груп, котрі протягом експерименту отримували з раціоном харчування нові види додатків, відзначено достовірне зниження вмісту радіонуклідів в організмі. Найбільш виражені протирадіонуклідні властивості у БЛВКЛ з мікроелементами, БЛВКЛ з дріжджами, целолігніну, та у БЛВКЛ.

Слід відзначити, що всі вивчені види композицій сприяють прискоренню виведення радіоактивного стронцію з організму щурів. За 16 днів спостережень найбільш суттєвий вплив на кінетику обміну стронцію-85 справляють БЛВКЛ з мікроелементами, холоцелюлоза, целолігнін та харчові волокна з дріжджами. Під впливом цих композицій з організму щурів було виведено відповідно 96,5%, 95,7%, 95,7% та 95,8% радіоактивного стронцію. БЛВКЛ за той же проміжок часу виводять з організму тварин 94% стронцію-85.

Отже, отримані нові препарати, що мають всі ознаки біологічно активної композиції та фізіологічного ентеросорбенту, що дозволяє розширити спектр композицій лікувально-профілактичної спрямованості.

За допомогою санітарно-гігієнічного аналізу БЛВК бобових трав на Одеській ОблСЕС доведено, що в препаратах відсутні пестициди, афлотоксини, вміст важких металів значно нижче гранично допустимих концентрацій.

Проведення медично-біологічних досліджень БЛВК на щурах дозволило вивчити фармакологічні властивості білковолігнуглеводних комплексів бобових трав. Встановлено, що їх вживання сприяє створенню умов для прискореного виведення токсичних сполук з організму, завдяки м'якій корекції обмінних процесів надає широкі можливості для лікувально-профілактичного харчування.

З'ясовано, що препарати є засобом, котрий ефективно знижує рівень глюкози в сироватці крові при цукровому діабеті, а також факт активної участі БЛВК в холестериновому обміні, що корелює з даними, отриманими у лабораторних дослідженнях з жовчю людей, хворих на механічний гепатит.

Довгострокові дослідження показали, БЛВК бобових трав є безпечними, при цьому не знайдено чітких кордонів вищого рівня глюкози, який препарати можуть зменшити, однак, нижня межа, до якої здійснюється зниження рівня глюкози, є нормою (рис.4). Визначено глікемічні індекси (ГІ) БЛВК бобових трав: 31,79% БЛВКЛ, 33,61% БЛВКГ, 35,86% БЛВК та стандартного препарату ХВ - харчових волокон пшеничних висівок (ХВПВ) - 27,43%. Для порівняння ГІ білого хліба 100%.

На підставі проведених медично-біологічних та клінічних досліджень можливо зробити такі висновки: дієти, до складу яких входять БЛВК бобових трав, сприяють секреції загальних ліпідів і холестерину печінкою, при цьому

збільшується їх виведення, можливо, за рахунок сорбційних властивостей БЛВК, утилізація білку при цьому не зменшується. БЛВК беруть активну участь в ліпідному обміні, зв'язуючи жовчні кислоти, при цьому збільшується їх екскреція. Цей ефект можливо пояснити зменшенням захоплення печінкою холестерину, таким чином гальмується його всмоктування під впливом препаратів, збільшення екскреції жовчних кислот свідчить про наявність адсорбційних процесів в кишечнику. Отже, БЛВК бобових трав можуть зменшувати постпрандіальну глікемічну реакцію, рівень холестерину і необхідну дозу інсуліну у хворих інсулінзалежною формою діабету.

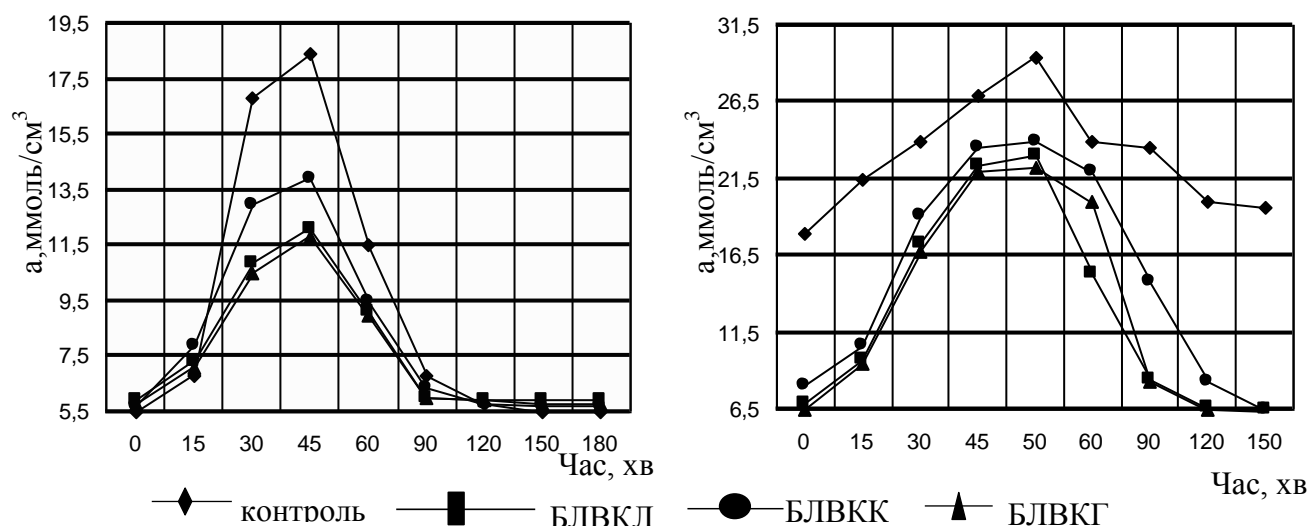


Рис. 4. Глікемічні криві при проведенні глюкозотолерантного тесту (ГТТ): а) рівень глюкози у сироватці крові здорових щурів, б) рівень глюкози в крові тварин з алоксановим діабетом.

Вперше проведено комплексне вивчення фармакологічних ефектів білковолігнуглеводних комплексів бобових трав, і з'ясовано, що вживання БЛВК не тільки сприяє створенню умов для прискореного виведення токсичних сполук з організму, але й завдяки м'якій корекції обмінних процесів відкриває широкі можливості для лікувально-профілактичного харчування.

Проведено апробацію технології отримання БЛВК та композицій на їх основі в промислових умовах (об'єднання "Єскін", м. Комрат, республіки Молдова). Отримані на Одеському комбінаті харчових концентратів продукти (супи, каші) з введенням БЛВК. Здійснено введення комплексів до складу хлібобулочних виробів.

### Висновки

1. З'ясовано, що БЛВК складається з природних біополімерів: геміцелюлоз (19,5-24%), целюлози (26-35%), лігніну (16,5-18%), білкових (15-23,5%) і пектинових речовин (5-6,8%), пов'язаних між собою водневими, ковалентними та іншими зв'язками.

2. Показано, що в процесі виділення БЛВК біополімери зазнають змін: зменшується молекулярна маса за рахунок відщеплення бокових ланцюгів,

збільшується кількість карбоксильних груп за рахунок деметоксилювання, таким чином збільшується кількість сорбційних центрів на поверхні БЛВК.

3. Показано, що БЛВК бобових трав мають більш розвинену поверхню, ніж відповідна сировина, що сприяє збільшенню сорбційної здатності комплексів і вони стають більш активними сорбентами, ніж стандартний препарат харчових волокон - ХВПО.

4. Визначені величини сорбції іонів металів (від 6,5 мг/г до 26,0 мг/г), низькомолекулярних речовин (метиленового синього, аміаку, амінокислот, глюкози та ін.), холевих кислот, деяких екологічно шкідливих речовин (фенол, формальдегід та ін.) і сорбційні ємності та з'ясовано, що БЛВК є фізіологічними ентросорбентами. Величини максимальної катіонообмінної ємності БЛВК бобових трав лежать в інтервалі 1,7-2,3 мекв/г. При цьому вони перевищують катіонообмінну здатність ХВ ПО (1,35 мекв/г).

5. З використанням методів математичної статистики та планування експерименту вибрано оптимальні методи виділення білковолігнуглеводних комплексів (БЛВК): температура  $98 \pm 2^\circ\text{C}$ , тиск - атмосферний, час обробки - 60 хв, масова частка сірчаної кислоти у розчині у випадку люцерни і конюшини 0,5%, у випадку галеги - 0,25%, гідромодуль 10.

6. Надано характеристику біохімічного складу і проведено фракціонування біополімерів бобових трав та БЛВК, здійснено порівняння їх складу та будови. Вперше виділені лігнінні речовини і білок з надземної маси трав та комплексів.

7. Підтверджено передумову про біологічну цінність БЛВК бобових трав як ефективних засобів при захворюваннях, пов'язаних з порушеннями обміну речовин - цукровим діабетом, у відновлювальній терапії хворих на механічний гепатит, для зменшення всмоктування і збільшення виведення радіонуклідів.

8. Визначено шляхи використання БЛВК і композицій на їх основі в лікувально-профілактичному та дієтичному харчуванні у складі хлібобулочних виробів, харчових концентратів.

#### **Основні публікації за результатами досліджень:**

1. Дудкин М.С., Данилова Е.И., Денисюк Н.А. Состав и характеристика строения полисахаридов бобовых трав // Доповіді НАН України. - 2000. - № 12. - С.164-167.

2. Данилова О.І. Деякі аспекти фізіологічної дії білковолігнуглеводних комплексів бобових трав // Фармацевтичний журнал. - 2000. - № 5. - С.72-77.

3. Дудкін М.С., Данилова О.І., Щелкунов Л.Ф. Фізіологічні особливості фармакологічної дії білковолігнуглеводних комплексів з різних видів рослинної сировини // Фізіологічно активні речовини. - 2000. - № 2 (30). - С.78-82.

4. Данилова Е.И. Дудкин М.С. Щелкунов Л.Ф. Фомичев А.А. Сорбция холевых кислот пищевыми волокнами // Вопросы питания. - 1996. - № 1.- С.31-34
5. Данилова О.І., Дудкін М.С., Щелкунов Л.Ф. Корекція обмінних процесів в організмі людини за допомогою білковолігнуглеводних комплексів з рослинної сировини /В кн. "Вчені України - вітчизняній фармації" Під. ред. В.П.Черних, О.І.Тихонова, І.А.Зупанця.Х.: Вид-во НФАУ. - 2000. - С.141-142.
6. Щелкунов Л.Ф., Дудкін М.С., Данилова О.І. Лікувально-профілактичні добавки з рослинної сировини, які мають радіопротекторні властивості // "Ліки-людині" Харків.-2000.-Т.13. -С.179-185.
7. Dudkin M.S., Danilova E.I., Varlamova K.A. Galega officinalis food fibre and its use //Proceedings of Fifth International Congress on Leaf Protein Research "LEAFRO-96" Vol.2. Green vegetation fractionation for food purposes. Rostov-on-Don, Russia.-1996. -P.194-197.
8. Щелкунов Л.Ф., Дудкин М.С., Данилова Е.И. Использование пищевых волокон при экспериментальном гепатите у крыс // Вопросы питания. - 2000. - № 1-2. - С.19-22.
9. Дудкін М.С., Данилова О.І., Щелкунов Л.Ф. Білковолігнуглеводні комплекси з рослинної сировини - природні ентеросорбенти //Праці науково-практичної конференції "Екологія і здоров'я людини, охорона повітряного і водного басейнів. Утилізація вітходів." 12-16 червня 2000 р. м.Щолкіно, Крим. - Харків. 2000. - Т.1. - С.217.
10. M.S.Dudkin, H.I.Danilova, K.A.Varlamova A promising use of Galega officinalis dietary fibre //Third European Symposium on Industrial Crops and Product, Reims Champagne Congres, Reims, Franse, 22- 24 April 1996. Reims, Franse. 1996. -V.3. -P.812
11. Дудкин М.С., Щелкунов Л.Ф., Решта С.П., Данилова Е.И., Сагайдак Т.В., Сони́на Р.А. Пищевые волокна как сорбенты экологически вредных веществ в желудочно-кишечном тракте //Тез. докл. науч. конф. "Морфология, физиология и клиника пищеварения", Одесса, 13-16 нояб. 1993 г. - Одесса, 1993. -С.35-36
12. Дудкин М.С., Щелкунов Л.Ф., Решта С.П., Данилова Е.И., Сони́на Р.А., Сагайдак Т.В. Способ снижения содержания экологически вредных веществ в организме человека Патент Украины № 10383 Оpubл.25.12.96 Офіційний бюллетень України "Промислова власність".- 1996, № 4
13. Дудкин М.С., Данилова Е.И., Денисюк Н.А. Способ выделения пищевых волокон из трав Патент Украины № 23154 А Оpubл. 19.05.98. Офіційний бюллетень України "Промислова власність". –1998, № 4

### Анотації

**Данилова О.І. Білковолігнуглеводний комплекс бобових трав.** Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 - біоорганічна хімія. - Фізико-хімічний інститут ім.О.В.Богатського НАН України, Одеса, 2001.

Робота присвячена вивченню властивостей біополімерних комплексів трав'янистих бобових культур. Доведено, що отримані препарати мають функціональні ознаки харчових волокон, в той же час вони досить специфічні, що пов'язано з особливостями їх хімічного складу, а саме, високим вмістом білкової компоненти. Волокниста компонента в цьому випадку надає білку додаткову стійкість. Завдяки особливостям процесу отримання відбувається активація компонентів, що їх складають: геміцелюлоз, целюлози, лігніну, пектинових, білкових речовин.

На підставі даних біологічного тестування зроблено висновок, що білковолігнуглеводні комплекси бобових трав та композиції на їх основі зменшують накопичення та збільшують виведення радіонуклідів.

Комплексне вивчення фармакологічних ефектів нових препаратів довело, що вони м'яко корегують перебіг обмінних процесів, зменшують постпрандіальну глікемічну реакцію, рівень холестерину і необхідну дозу інсуліну у хворих на інсулінзалежну форму діабету.

Результати експериментального і теоретичного вивчення білковолігнуглеводних комплексів бобових трав свідчать про те, що отримані нові препарати, які мають всі ознаки біологічно активної композиції та фізіологічного ентросорбенту.

Ключові слова: біополімери, властивості, будова, харчові волокна, біологічно активна композиція, діабет.

**Данилова Е.И. Белковолигнуглеводный комплекс бобовых трав.** Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 - биоорганическая химия. - Физико-химический институт им.А.В.Богатского НАН Украины, Одесса, 2001.

Работа посвящена изучению свойств биополимерных комплексов травянистых бобовых культур. Доказано, что полученные препараты имеют функциональные признаки пищевых волокон, в это же время, они довольно специфичны, что связано с особенностями их химического состава, а именно, высоким содержанием белковой компоненты, волокнистая компонента в этом случае придает белку дополнительную стойкость. В процессе выделения происходит активация компонентов белковолигнуглеводных комплексов - гемицеллюлоз, целлюлозы, лигнина, пектиновых, белковых веществ.

На основании данных биологического тестирования сделан вывод, что белковолигнуглеводные комплексы бобовых трав и композиции на их основе уменьшают накопление и увеличивают выведение радионуклидов.

Комплексное изучение фармакологических эффектов новых препаратов доказало, что они мягко коррегируют течение обменных процессов, уменьшают постпрандиальную гликемическую реакцию, уровень холестерина и

необходимую дозу инсулина больных инсулинзависимой формой диабета.

Полученные результаты экспериментального и теоретического изучения белковолигноуглеводных комплексов бобовых трав свидетельствуют о том, что получены новые препараты, имеющие все признаки биологически активной добавки и физиологического энтеросорбента.

Ключевые слова: биополимеры, свойства, строение, пищевые волокна, биологически активная добавка, профилактика заболеваний, диабет.

**O.I.Danylova. Protein Lignin Carbohydrate Complex in Some Leguminous Grasses.**  
Manuscript.

Thesis for a candidate's degree by speciality 02.00.10 bioorganic chemistry - A.V.Bogatsky Physico-chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine. Odessa, 2001.

The preparations obtained proved to possess functional dietary fiber characteristics and at the same time they are rather specific due to the peculiarities of their chemical composition, that is high content of protein component, the fibrous component gives protein the additional steady-state in this case. The excretory process leads to further activation of Protein Lignin Carbohydrate Complex components - hemicellulose, cellulose, lignin, pectin and protein products. On the basis of biological tests it is determined that Protein Lignin Carbohydrate Complexes in some leguminous grasses as well as their composition can reduce radionuclide accumulation and increase radionuclide elimination. Complex study of pharmacological effects of new preparations shows that in addition to their mild correction of exchange processes they reduce postprandial glycemic reaction, cholesterol level and the insulin dose needed for patients with I.D.D.M. ( Insulin Dependent Diabetes Mellitus ). The results of experimental and theoretic studies of Protein Lignin Carbohydrate Complexes in some leguminous grasses show that we have obtained new preparations possessing both the properties of biologically active additive and physiological enterosorbent.

Key words: biopolymer, properties, structure, dietary fiber, biologically active additive, chemical composition, diabetes.

Підписано до друку 18.04.2001 р., замовлення № 196  
Формат 1.16 60x90. Обл. вид. арк. 1,1. Ум. Друк. арк. 1,25.

Тираж 100 прим.

Віддруковано у видавничому центрі ОДАХТ,  
Україна, 65039, м. Одеса, вул Канатна, 112