

УДК 577.151.42

Д. В. СТАЦЕНКО

Київський національний університет технологій та дизайну

**ВПЛИВ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ НА ВЛАСТИВОСТІ СУБСТРАТУ КОЛАГЕНУ**

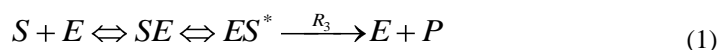
У статті розглянуто вплив ферментів протеолітичної дії на розчини з використанням субстрату колагену. Визначено їх ефективність та деструкційні властивості на субстрат колагену. Приведені результати дослідів порівняння двох ферментів, Протеази та Chetizum ВН, засновані на визначенні відносної в'язкості.

**Ключові слова:** фермент, відносна в'язкість, субстрат, колаген, Протеаза, Chetizum ВН.

Шкіряне виробництво є однією з важливих галузей України. Технологічний процес обробки шкур тварин в готову продукцію дуже складний, багато його фаз тривалі та трудомісткі, у яких використовуються шкідливі хімічні матеріали, кількість білкових та інших відходів велика, значне забруднення стічних вод. Тому необхідне вдосконалення шкіряного виробництва, одним із шляхів якого є застосування ферментів і менш шкідливих хімічних препаратів.

**Об'єкти та методи дослідження**

Об'єкт статті є дослідження дії ферментів на властивості субстрату колагену. Використання ферментів на різних етапах обробки шкіри та хутра є актуальним питанням, яке розглядається у зарубіжних періодичних виданнях та у наукових журналах [1–3]. Механізм дії ферментів полягає у з'єднання субстрату з ферментом, що призводить до активації молекул субстрату, завдяки поляризації, зміщення електронів або ініціювання ланцюгових реакцій шляхом утворення вільних радикалів. Утворення і перетворення комплексу фермент – субстрат характеризується трьома стадіями [4,5]: 1) Приєднання молекул субстрату до ферменту; 2) Перетворення отриманого проміжного продукту у один або декілька послідовних активованих комплексів; 3) Від'єднання готової продукції реакцій від ферменту.



S – вихідний субстрат; E – фермент; SE – первинний компонент ферменту з субстратом;  $ES^*$  – нетривкий перехідний активований комплекс; P – продукт реакції; R – константа швидкості реакції.

Дія ферментів визначається різними методами: 1) Зменшенню кількості субстрату або повному його розщепленню при дії мінімальної кількості ферменту. 2) Зміні властивостей середовища – в'язкості, оптичне обертання, електропровідність, поверхневий натяг, об'єм, показник переломлення і мутності. 3) Спектрофотометричними, колориметричними, поляриметричними визначеннями аміних карбоксильних груп, загального азоту і молекулярної маси продукту реакції. 4) Зміні властивостей не перетвореного у розчин субстрату. 5) Шляхом вивчення субстрату диференційно-термічними, рентгенографічними, мікроскопічними, електроно-мікроскопічними методами.

Загалом активність ферментів визначають за повним розщепленням субстрату під дією на нього у визначених умовах мінімальної кількості ферменту. У шкіряному виробництві ферментні препарати використовують при м'якшенні голини [6].

**Постановка завдання**

Метою даної роботи є дослідження впливу ферментів на властивості субстрату колагену, проведення дослідів пов'язаних з визначенням відносної в'язкості, що буде відображати деструкційну дію ферментів на субстрат колагену.

**Результати та їх обговорення**

В роботі була використана речовина «Геліос-12», в якості колагену, речовина являє собою високомолекулярний, волокнистий яловичий білок, який отримують з очищеної колагенової тканини тварин за допомогою спеціальної технології. Характеристика даної речовини наведена у табл. 1 [7].

Таблиця 1. Характеристика субстрату «Геліос-12»

Назва показника	Характеристика
Зовнішній вигляд	Порошкоподібний однорідний продукт
Колір	Світло-кремовий, однорідний по всій масі
Запах	Характерний для даного продукту, не допускається наявність стороннього запаху
Смак	Властивий даному продукту
Величина рН водної витяжки (1% р-н.)	6,5-8
Масова доля сухої речовини, % не менше	95±2
Масова доля білка, % не менше	93±2
Масова доля жиру, % не більше	2
Масова доля золи, % не більше	2
Масова доля вологи, % не більше	8
Сторонні домішки	Не допускаються
Розчинність у воді	Однорідна маса, яка не містить грудків

Субстрат «Геліос-12» після обробки представляє собою речовину, яка складається з рідинної та твердої фази і є напівтвердим тілом. Для його деструкції використовувались два ферменти – «Chemizum ВН» активність – 1000од., рН= 8,3÷8,8, температура дії 32–36<sup>0</sup>С, –Протеаза отриманий при культивуванні бактеріального шלאму, розроблений інститутом мікробіології і вірусології НАН України, електроактивована вода католіт, рН якого складає 10...11, аноліт з рН– 2...3, а також дистильована вода з рН=6,8–7,2.

За результатами досліджень вищезазначених ферментів, було виявлено залежність відносної в'язкості субстрату (Геліос-12) від тривалості дії ферменту (15хв., 25хв., 30хв., 45хв., 60хв.) з різними його витратами (0,0125%, 0,02%, 0,025%, 0,04%, 0,05%) розчиненого в електроактивованій (аноліті, католіті) і дистильованій воді. Для визначення відносної в'язкості використано віскозиметр типу ВЗ-243 зображений на рис. 1. Після проведення роботи, на першому етапі, були отримані дані, які наведені на рис. 2–7.



Рис. 1. Фотографія віскозиметру ВЗ-243

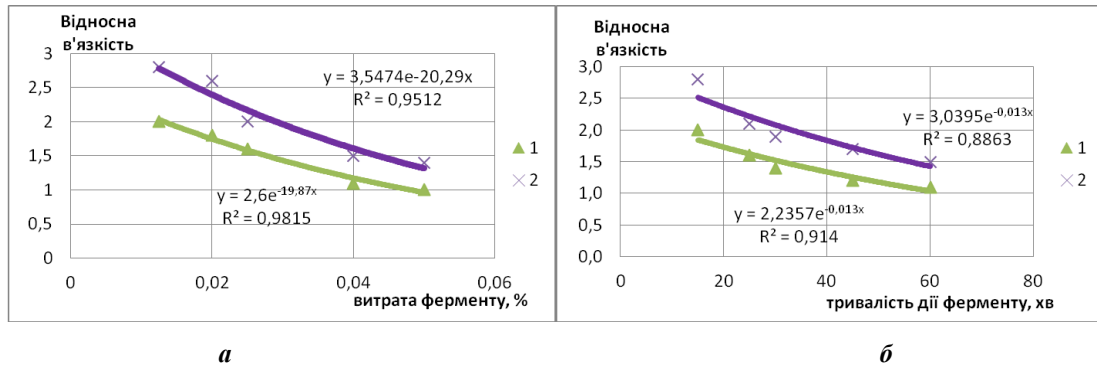


Рис. 2. Залежність відносної в'язкості дослідженого зразка під дією ферментів 1) Протеази та 2) Chemizum ВН, у католіті при  $t = 20^{\circ}\text{C}$ , від:

**а** – витрати ферменту (тривалість дії 15хв); **б** – тривалості дії ферменту (концентрація 0,0125%)

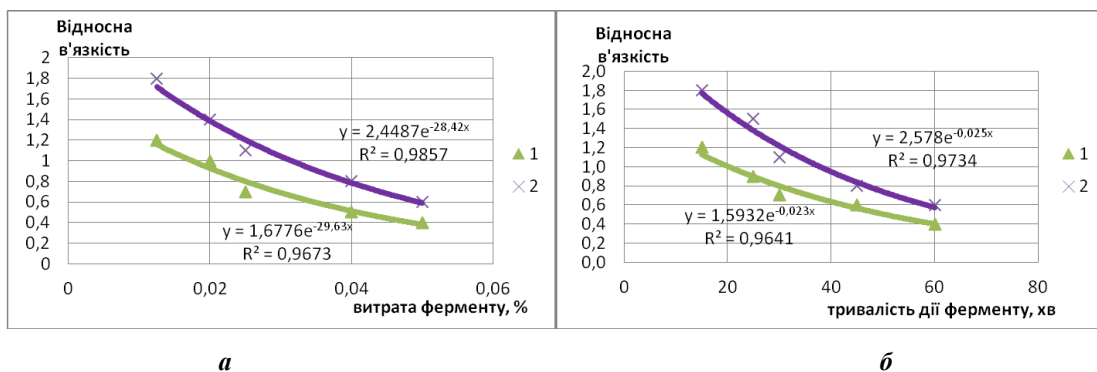


Рис. 3. Залежність відносної в'язкості дослідженого зразка під дією ферментів 1) Протеази та 2) Chemizum ВН, у аноліті при  $t = 20^{\circ}\text{C}$ , від:

**а** – витрати ферменту (тривалість дії 15хв); **б** – тривалості дії ферменту (концентрація 0,0125%)

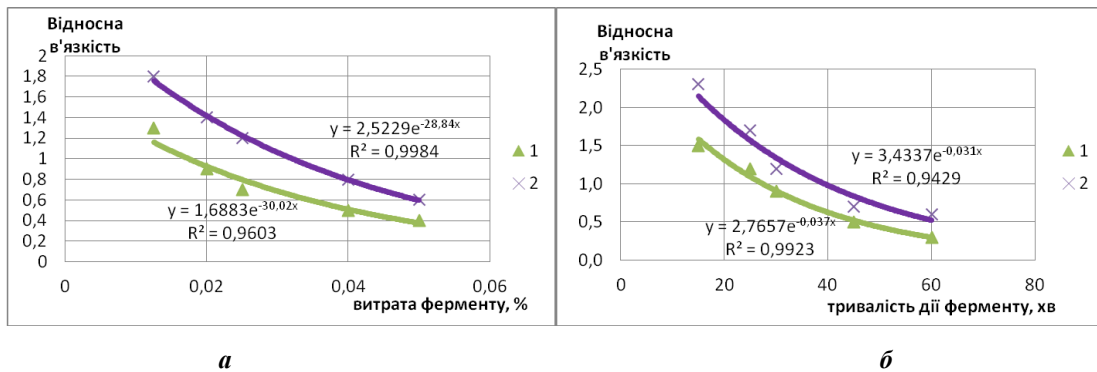


Рис. 4. Залежність відносної в'язкості дослідженого зразка під дією ферментів 1) Протеази та 2) Chemizum ВН, у дистильованій воді при  $t = 20^{\circ}\text{C}$ , від:

**а** – витрати ферменту (тривалість дії 15хв); **б** – тривалості дії ферменту (концентрація 0,0125%)

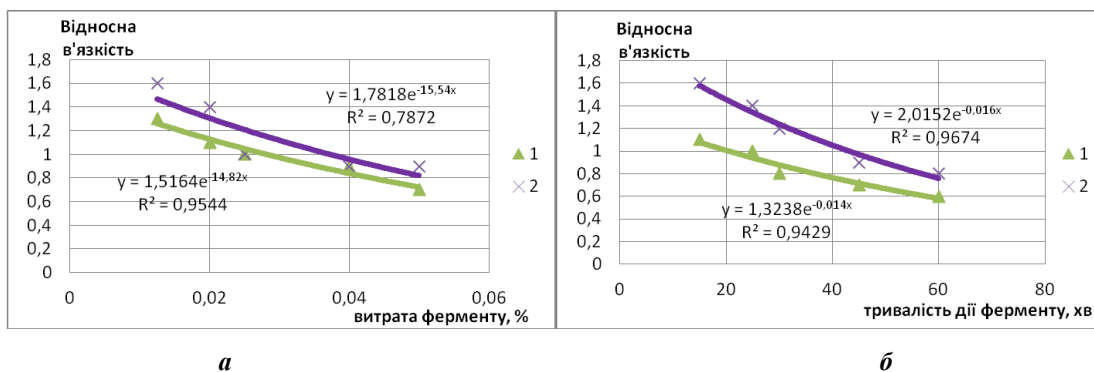


Рис. 5. Залежність відносної в'язкості дослідженого зразка під дією ферментів 1) Протеази та 2) Chemizum BH, у цитраті при  $t = 20^{\circ}\text{C}$ , від:  
*a* – витрати ферменту (тривалість дії 60хв); *б* – тривалості дії ферменту (концентрація 0,05%)

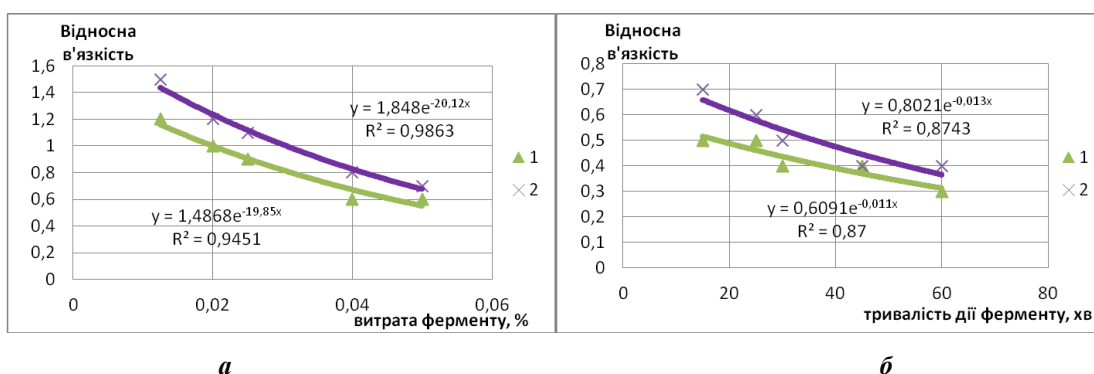


Рис. 6. Залежність відносної в'язкості дослідженого зразка під дією ферментів 1) Протеази та 2) Chemizum BH, у ацетаті при  $t = 20^{\circ}\text{C}$ , від:  
*a* – витрати ферменту (тривалість дії 60хв); *б* – тривалості дії ферменту (концентрація 0,05%)

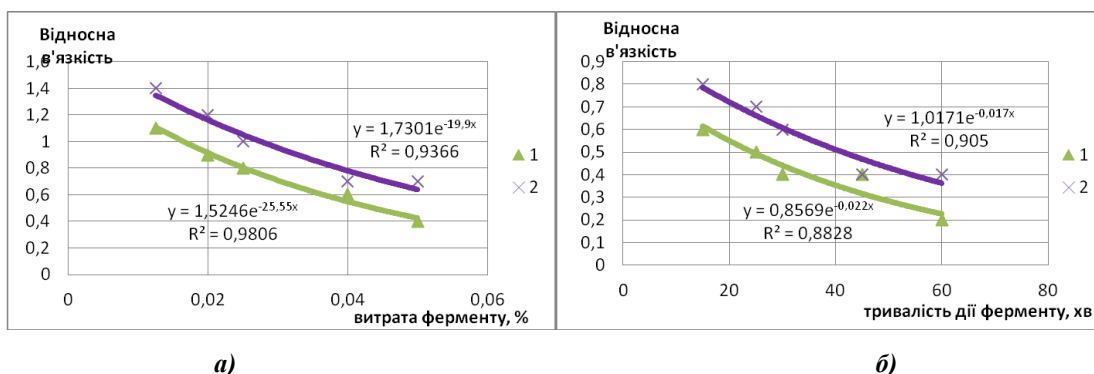


Рис. 7. Залежність відносної в'язкості дослідженого зразка під дією ферментів 1) Протеази та 2) Chemizum BH, у дистильованій воді при  $t = 20^{\circ}\text{C}$ , від:  
*a* – витрати ферменту (тривалість дії 60хв); *б* – тривалості дії ферменту (концентрація 0,05%)

Аналіз залежностей зображених на рис. 2–7 дозволяє стверджувати, що відразу після додавання ферментів Протеази та Chemizum BH (при температурі  $30\text{--}32^{\circ}\text{C}$ ) зі збільшенням тривалості їх реагування з субстратом відносна в'язкість має тенденцію до зменшення.

Також у всіх випадках видно, що відносна в'язкість розчинів на основі Протеази у середньому на 40% нижче, ніж у Chemizum ВН, що свідчить про те, що деструкційна дія Протеази вища ніж у Chemizum ВН. Після охолодження цих розчинів до температури 19–20<sup>0</sup>С протягом 10хв., виявлена закономірність, яка полягає в зменшенні відносно в'язкості всіх розчинів зі збільшенням тривалості дії ферментів, але абсолютні значення відносно в'язкості значно більші від вимірених відразу після дії ферменту. Як показують результати дослідів відносна в'язкість розчинів субстрату залежить від рН середовища. Так, при дії аноліту на субстрат, тобто в кислому середовищі має місце деструкційна дія аноліту. Найменша в'язкість, ферменту спостерігається в аноліті, а найбільша в католіті. В процесі дії ферменту на розчин субстрату спостерігається деструкція колагену, як під дією самого ферменту так і під дією електроактивованої води, а зростання відносно в'язкості після охолодження розчинів субстрату можна пояснити структуруванням продуктів деструкції.

#### **Висновки**

Дослідження впливу ферментів на субстрат «Геліос-12», який слугує в якості моделі колагену шкіри, отримали результати, що свідчать про різну корисну дію ферментів на колаген. У наведених результатах ефективність дії ферменту Протеаза на 40% краща, ніж у ферменту Chemizum ВН, що дає можливість рекомендувати фермент Протеаза до використання в технологічних процесах шкіряного виробництва.

#### Список використаної літератури

1. R. B. Choundhary Enzyme technology application sinleather processing / R. B. Choundhary, A. K. Jana, M.K. Jha // Indian Journal of Chemical Technology. – 2004. – № 11. – С. 659–671.
2. Justa Širvaitytė Bating of peltsafter deliming with peraceticacid / JustaŠirvaitytė, VirgilijusValeika, KęstutisBeleška, VioletaValeikienė // Proc. EstonianAcad. Sci. Chem. – 2006. –№ 55. – С. 93–100.
3. Altan Afsar Studies on the degreasin go fskinbyu singenzy meinliming process / Altan Asfar, FatmaCetinkaya // Indian Journalof Chemical Technology. – 2008. – № 15. – С. 507–510.
4. Шестакова И.С. Ферменты в кожевенном и меховомпроизводстве./ Шестакова И.С., Моисеева Л. В., Миронова Т. Ф.; Учебник.–М.: Легпромбытиздат,1990 (128с).
5. Андреева О. А. Фізика та хімія протеїнів: Підручник. – К.: КНУТД, 2003.–224с. (158–159)
6. Варбанець Л.Д. Протеолітичні ферменти мікроорганізмів та методи їх дослідження./ Варбанець Л.Д.,Мацелюх О. В.; – Київ: 2008. – 108 с.
7. [http://www.tomig.com.ua/products/gelios\\_11](http://www.tomig.com.ua/products/gelios_11)

Стаття надійшла до редакції 11.10.2012

#### **Влияниедействияферментов на свойствасубстратаколлагена**

Стаценко Д.В.

*Киевскийнациональныйуниверситеттехнологий и дизайна*

В статье рассмотрено влияние ферментов протеолитического действия на растворы с использованием субстрата коллагена. Определена их эффективность и разрушающие свойства на субстрат коллагена. Приведены результаты опытов сравнения двух ферментов, Протеаза и Chemizum ВН, основанные на определении относительной вязкости.

**Ключевые слова:** фермент, относительная вязкость, субстрат, коллаген, Протеаза, Chemizum ВН.

**Influence of enzyme effect on collagen substratum properties**

Statsenko D.

*Kiev national university of technologies & design*

In article influence of proteolytic activity enzymes on solution with use of collagen substratum is reviewed. Their efficiency and destruction property on a collagen substratum is determined. Results of two enzymes investigation, Proteases and Chemizym BH, comparison based on determination of relative viscosity are given.

**Keywords:** enzyme, relative viscosity, substratum, collagen, Proteases, Chemizym BH.