

ПОДГОТОВКА ПЧЕЛИНОГО ПОДМОРА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ХИТИН-МЕЛАНИНОВОГО КОМПЛЕКСА

П.А. Красочко¹, А.И. Албулов², И.А.Красочко¹, С.С. Жахангиров¹, М.А. Фролова, В.И. Еремец², К.М. Федоринова², З.А. Антонова³

¹ Учреждение образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Витебск, Республика Беларусь

² Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Щелково, Московской области, Российская Федерация

³ Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ, Минск, Республика Беларусь

E-mail: info@bioprogress.ru

Аннотация. Цель исследования – изучение химического состава пчелиного подмора и его подготовка для получения хитин-меланинового комплекса. Установлено, что подмор состоит из: жиров – 19 %, минеральных веществ – 28 %, белков и аминокислот – 30 %, хитин-меланинового комплекса – 23%. Получение хитин-меланинового комплекса включает стадии обезжиривания, депротеинизации, деминерализации и высушивания на каждом этапе.

Ключевые слова: подмор, депротеинизация, деминерализация, обезжиривание, хитин-меланиновый комплекс.

Введение

Пчелиный подмор – это тела пчел и трутней, которые закончили свою жизнь естественным образом. Подмор – это тельца погибших пчел – летом 26–35 дней, зимой – до 180 дней. Тельце пчелы насыщено практически всеми продуктами пчеловодства: минералы, ферменты, аминокислоты, гормоносодержащие вещества, а также антиоксиданты, гепатопротекторы, природные антибиотики (входящие в состав пчелиного яда). В его составе в формах, легко усваиваемых организмом человек и животных содержится около 27 микроэлементов: от фосфора и калия до железа, магния и цинка.

Одним из самых главных компонентов в составе подмора является хитин. Он оказывает на кишечник очищающее действие, нормализует его микрофлору, не дает образовываться язвам, способствует выводу токсинов и регулирует кислотность в желудке. Благодаря хитину ускоряется синтез витаминов, относящихся к группе В.

В хитиновой оболочке пчел присутствует пигмент меланин, ковалентно связанный с белком и хитином, и, благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам, обеспечивает защиту пчел от действия УФ, ионизирующей радиации, токсического действия тяжелых металлов, эндогенных и чужеродных химических веществ.

Меланин, входящий в состав хитин-меланинового комплекса, обладает иммуномодулирующим, антиоксидантным, антирадиальным и адаптогенным действием, поэтому может служить в качестве основы меланосодержащих биологически активных добавок широкого спектра действия. Черный пигмент может быть отнесен к химически разнородной группе гетероциклических полимерных веществ нерегулярного строения, химическая структура которых до конца не выяснена. По химическому строению, свойствам и видовой принадлежности меланин классифицируется на алло-, фео- и эумеланины.

Меланины из подмора пчел, вероятно, относятся к эумеланинам – черным азотсодержащим пигментам животного происхождения. По структуре они представляют собой полимеры индолил-5,6-хинона с включением его восстановленных форм.

Защитная барьерная функция меланинов диктуется особенностями физико-химических свойств этих веществ и представляется наиболее простым, надежным и универсальным средством изоляции чувствительных клеточных структур от повреждающего действия того или иного фактора.

Возможно, барьерный меланиногенный механизм возник очень давно, когда первичным организмам приходилось в первую очередь защищаться от жесткого ультрафиолета.

В этой связи возрастает интерес к пчелиному подмору, который может быть использован в виде исходного сырья для получения хитин-меланинового комплекса.

Учитывая тот факт, что химический состав продуктов пчеловодства, в том числе и подмора, имеет высокую вариабельность из-за мест обитания пчел, химического состава почвы, ботанического состава растений, а состав подмора будет иметь свой состав для различных регионов обитания пчел.

Цель исследования – изучение химического состава пчелиного подмора и его подготовка для получения хитин-меланинового комплекса.

Материалы и методы исследований

Исследования проводились на кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины», ООО «Биопрогресс», лаборатории топлив, масел и кормов НИИ физико-химических проблем БГУ, пчелопасеках Витебской и Могилёвской областей.

Обезжиривание пчелиного подмора, его депротеинизация и деминерализация проводилась по методу, описанному А.Ш. Хайровой с соавт [5] в нашей модификации.

Минеральные вещества водного экстракта пчелиного подмора, полученного путем деминерализации с использованием 2% соляной кислоты, определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на приборе ICP-OES ACTIVA M (Horiba Jobin Yvon, Франция). В качестве стандартного образца для определения концентрации 23 элементов (Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Tl, Zn) использовали мультиэлементный стандарт IV (фирмы Merck). Согласно качественному анализу элементы Bi, Cd, Co, Cr, Ga, In, Li, Ni, Pb и Tl не были обнаружены, поэтому их количественное определение не проводилось.

Калибровочные растворы, с концентрациями 0; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 мг/кг элементов в качестве фона содержали 5 % HNO_3 . Пробоподготовка заключалась в переводе всех компонентов пробы в раствор: раствор А – для определения содержания Al, B, Ba, Cr, Cu, Fe, Mn, Sr, Zn (калибровочный диапазон 0-5 мг/кг); раствор Б – для определения содержания Ca, K, Mg, Na (калибровочный диапазон 0-10 мг/кг). Приготовление раствора А: к 10 см³ водного экстракта приливали 2,5 см³ концентрированной азотной кислоты и нагревали до полного растворения пробы. Полученный концентрат переносили в мерную колбу на 25 см³, доводили его объем дистиллированной водой до метки и перемешивали. Приготовление раствора Б: к 1 см³ раствора А переносили в мерную колбу на 50 см³, доводили его объем дистиллированной водой до метки и перемешивали. Определяли количественное содержание элементов в растворах А и Б, и пересчитывали на водный экстракт пчелиного подмора с учётом разбавления (умножая на 2,5 и 125 соответственно).

Наличие липидов, минералов и протеина определяли по разнице веса обработанного подмора жирорастворителем, щелочью и кислотой. Липиды идентифицировали при помощи цветной реакции с сульфифосфованилиновым реактивом, при которой идет взаимодействие продуктов распада липидов с реактивом, состоящим из ванилина, фосфорной и серной кислот. В ходе реакции развивается розово-красное окрашивание, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации липидов. Белки после гидролиза щелочью превращаются в аминокислоты, промежуточные продукты гидролиза - пептиды и полипептиды. Их наличие определяли методом формольного титрования, суть которого заключается в том, что аминокислоты, пептиды и полипептиды вступают в реакцию с формальдегидом с образованием метиленовых производных (метиленаминокислот), которые обладают более сильными кислотными свойствами, чем аминокислоты, и легко оттитровываются щелочью.

Результаты исследований

Выделение липидов из пчелиных тел подмора проводили путем 3-кратного обезжиривания подмора с помощью растворителя 646 производства «Белнефтехим» (ГОСТ 18188-72). Для этого высушенный при температуре +45°C в течение 24 часов пчелиный подмор (100 г) заливали растворителем 646 из расчета 1:10, перемешивали 1 раз в час и настаивали в течение 1 суток при температуре +20–22°C. После чего отделяли жидкую фракцию на стеклянном фильтре. Процедуру повторяли 3 раза. После последней экстракции тельца пчел высушили и взвешивали.

В результате взвешивания установлено, что липидов в подморе было 19 %. При идентификации экстрагированных липидов при помощи цветной реакции с сульфифосфованилиновым реактивом подтверждено их наличие.

Отделение протеинов из тел пчел проводили путем депротеинизации 5 % раствором гидроокиси натрия в течение 4 часов при температуре +37–40°C. После чего отделяли жидкую фракцию на стеклянном фильтре и промывали дистиллированной водой, высушивали и взвешивали.

В результате взвешивания установлено, что белка в телах пчел было липидов в подморе было 30 %. Их идентификацию проводили методом формольного титрования, что было подтверждено наличие в щелочном гидролизате аминокислот, пептидов и полипептидов.

Наличие минеральных веществ проводили путем деминерализации с использованием 2 % соляной кислоты в течение 24 часов при температуре +20–22°C. После чего отделяли жидкую фракцию на стеклянном фильтре и промывали дистиллированной водой, высушивали и взвешивали.

В результате взвешивания установлено, что минеральных веществ в телах пчел было липидов в подморе было 28 %.

При проведении изучения минерального состава экстрагированных кислотой минеральных веществ из подмора методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на приборе ICP-OES ACTIVA M (Horiba Jobin Yvon, Франция) получены следующие результаты (таблица 1):

Приведенные в таблице 1 данные свидетельствуют, что подмор состоит в основном из Ca (221.88 мг/кг), K (1078.13 мг/кг), Mg (100.00 мг/кг), Na (78.13 мг/кг). Значительно меньше в подморе было Al, B, Ba, Cu, Fe, Mn, Zn – от 0,4 до 9,38 мг/кг, не обнаружено Bi, Cd, Co, Cr, Ga, In, Li, Ni, Pb, Sr, Tl.

**Сравнение содержания элементов (в мг/кг) в экспериментальной пробе
с литературными данными**

Элемент	Содержание элементов		
	экспериментальные данные, мг/кг	литературные данные, мг/кг	
	в водном экстракте пчелиного подмора (Беларусь)	[6] в пчелином подморе	[7] в золе от пчелиного подмора
Ag	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Al	2.50	не обнаружено	не обнаружено
B	2.98	не обнаружено	не обнаружено
Ba	0.57	20	не обнаружено
Bi	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Cd	не обнаружено	0,1	0.09
Co	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Cr	не обнаружено	не обнаружено	3.11
Cu	0.40	1.8	15,24
Fe	8.68	7600	30
Ga	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
In	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Li	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Mn	5.79	не обнаружено	2,94
Ni	не обнаружено	не обнаружено	0.55
Pb	не обнаружено	0.02	0.49
Sr	0.72	10	0.41
Tl	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
Zn	9.38	150	68,70
Ca	221.88	2750	495
K	1078.13	23500	5670
Mg	100.00	не обнаружено	не обнаружено
Na	78.13	не обнаружено	не обнаружено

При анализе собственных исследований с литературными можно сделать вывод, что имеется существенная разница в химическом составе подмора, полученном в Республике Беларусь, Украине и Красноярском крае. Это может зависеть от состава химического почв, растений, воды.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что подмор состоит из: жиров – 19 %, минеральных веществ – 28 %, белков и аминокислот – 30 %, хитин-меланинового комплекса – 23 %.

Список литературы

1. Биополимеры, иммуномодуляторы и пробиотики в бройлерном птицеводстве / А.П. Дуктов [и др.]. Горки : БГСХА, 2016. 289 с.
2. Берикашвили З. Н. Напиток лечебно-профилактического действия на основе пчелиного подмора/ З.Н. Берикашвили // Пиво и напитки, 2007. Вып. 5. С. 32–33.

3. Ермакова Н. Ю. Технология получения экстракта из пчелиного подмора / Н.Ю. Ермакова и др. // Биотехнология, 2010. Т. 3, № 2. С. 89–95.
4. Использование иммуномодуляторов в бройлерном птицеводстве / А.П. Дуктов [и др.]. Тюмень: ГАУ Северного Зауралья, 2021. 352 с.
5. Красочко П.А. Продукты пчеловодства: свойства, получение, применение / П. А. Красочко, Н. Г. Еремия. 2-е изд., перераб. и доп. Кишинэу; Витебск : Б. и., 2022 (Print-Caro). 723 р.
6. Красочко П.А. Технология продуктов пчеловодства и их применение / П.А. Красочко, Н.Г. Еремия //Учебник для вузов / Санкт-Петербург, Лань, 2022. 660 с.
7. Курдеко А.П. Биологически активные добавки из продуктов пчеловодства в птицеводстве / А.П. Курдеко, М.А. Гласкович, П.А. Красочко // Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2011. 304 с.
8. Прикладные аспекты иммуномодуляции ... с использованием средств природного происхождения / П. А. Красочко [и др.]. – Краснодар: КубГАУ, 2021. 398 с.
9. Хайрова А.Ш. Исследование черной львинки как потенциального источника хитозана / А.Ш. Хайрова, С.А. Лопатина, В.П. Варламов // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК. Под редакцией академика РАН А.Я. Самуйленко. М., 2019. С. 251–255.

ПОЛУЧЕНИЕ ХИТОЗАНА ИЗ ПОДМОРА ПЧЕЛ И ХРЕБТОВ КАЛЬМАРА. ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ДЕАЦЕТИЛИРОВАНИЯ

Т.Е. Кусков^{1,2}, Е.М. Подгорбунских², В.А. Бухтояров², А.Л. Бычков²

*¹ Новосибирский государственный университет, ул. Пирогова, дом 2,
Новосибирск, 630090, Россия,
E-mail: t.kuskov@g.nsu.ru*

*² Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, улица Кутателадзе, 18,
Новосибирск 630090, Россия
E-mail: podgorbunskikh@solid.nsc.ru*

Хитин является распространенным природным биополимером, состоящим из звеньев N-ацетилглюкозамина, соединенных с помощью β -1,4-гликозидной связи. В природе хитин существует в виде трех полиморфных модификаций: α -, β - и γ -хитина. α -Хитин состоит из полимерных цепей, расположенных антипараллельно. В структуре β -хитина цепи полимера расположены параллельно друг к другу. В γ -хитине есть участки как с параллельным, так и с антипараллельным расположением полимерных цепей. Существует предположение, что γ -хитин является смесью α - и β -хитина, а не отдельной полиморфной модификацией [1].

Хитозан представляет собой деацетилованную производную хитина, получаемую в ходе реакции деацетилирования. Глубина протекания процесса характеризуется степенью деацетилирования (процентное содержание освободившихся аминогрупп). Данный параметр характеризует чистоту продукта реакции. Хитозаном считается продукт реакции, имеющий степень деацетилирования более 50 % [2].

В последние годы наблюдается повышенный интерес к изучению хитозана благодаря его свойствам, таким как биоразлагаемость, нетоксичность и низкая аллергенность, которые