

6-29-2019

A research on biologically active compounds from black sea grass crab PALAEMON ADSPERSUS

L.V. Bal-Prylypko

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Address: 15 Heroiv Oborony, 03041, Kyiv city, Ukraine, Phone: +38 067 401 86 72, bplv@ukr.net

S.O. Lebskiy

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Address: 15 Heroiv Oborony, 03041, Kyiv city, Ukraine, Phone: +38 067 401 86 72

T.K. Lebskaya

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Address: 15 Heroiv Oborony, 03041, Kyiv city, Ukraine, Phone: +38 067 401 86 72

A.A. Menchinskaya

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Address: 15 Heroiv Oborony, 03041, Kyiv city, Ukraine, Phone: +38 067 401 86 72

Follow this and additional works at: <https://uzjournals.edu.uz/ijctcm>

 Part of the [Engineering Commons](#)

Recommended Citation

Bal-Prylypko, L.V.; Lebskiy, S.O.; Lebskaya, T.K.; and Menchinskaya, A.A. (2019) "A research on biologically active compounds from black sea grass crab PALAEMON ADSPERSUS," *Chemical Technology, Control and Management*: Vol. 2019 : Iss. 3 , Article 4.

Available at: <https://uzjournals.edu.uz/ijctcm/vol2019/iss3/4>

This Article is brought to you for free and open access by 2030 Uzbekistan Research Online. It has been accepted for inclusion in Chemical Technology, Control and Management by an authorized editor of 2030 Uzbekistan Research Online. For more information, please contact sh.erkinov@edu.uz.

A research on biologically active compounds from black sea grass crab PALAEMON ADSPERSUS

Cover Page Footnote

Tashkent State Technical University, SSC «UZSTROYMATERIALY», SSC «UZKIMYOSANOAT», JV «SOVPLASTITAL», Agency on Intellectual Property of the Republic of Uzbekistan

Erratum

?????



УДК 591.1/465.3:595.384.1.637.56

**A RESEARCH ON BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS FROM BLACK SEA GRASS
CRAB PALAEMON ADSPERSUS**
L.V.Bal-Prylypko¹, S.O.Lebский¹, T.K.Lebskaya¹, A.A.Menchinskaya¹
¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

Address: 15 Heroiv Oborony, 03041, Kyiv city, Ukraine

E-mail: bpplv@ukr.net, Phone: +38 067 401 86 72

Abstract: An investigation has been conducted to study the possibility of isolation in a single technological cycle and purification of a complex of collagenolytic enzymes, and the lipids from hepatopancreas of the Black Sea grass crabs. It was found that the activity of collagenolytic enzymes corresponds to this indicator of enzymes isolated from other crustaceans. Hepatopancreas lipids are characterized by high biological efficiency due to the high content of polyunsaturated fatty acids. Their total content is as 3 times as the recommended amount for a healthy diet. A high content of eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acids has been established.

Keywords: black sea grassy prawn, complex of enzymes, collagenolytic activity, fatty acids.

Аннотация: Бир технологик циклда қора денгиз ўт қисқичбақасидан коллагенолитик таъсирга эга ферментларни, ҳамда гепатопанкреас липидларини ажратиб олиш ва тозалаш имконияти ўрганилган. Коллагенолитик ферментлар фаоллиги кўрсаткичлари бошқа қисқичбақасимонлардан олинган айнан шундай ферментларникидек эканлиги кўрсатилган. Гепатопанкреас липидлари таркибида тўйинмаган ёғ кислоталарини тутгани ҳисобига юқори биологик самарадорлигига эгаллиги билан тавсифланмоқда. Унинг таркибидаги моддалар йиғиндиси соғлом озиқланиш учун тавсия этиладиган миқдорга қараганда уч баробар юқоридир. Эйкозапентаен ва докозагексаен ёғ кислоталарининг юқори миқдорда мавжудлиги аниқланган.

Таянч сўзлар: қора денгиз ўт қисқичбақаси, ферментлар комплекси, коллагенолитик фаоллик, ёғ кислоталари.

Аннотация: Изучена возможность выделения в едином технологическом цикле и очистки комплекса ферментов коллагенолитического действия, а также липидов из гепатопанкреаса черноморской травяной креветки. Показано, что активность коллагенолитических ферментов соответствует этому показателю ферментов, выделенных из других ракообразных. Липиды гепатопанкреаса характеризуются высокой биологической эффективностью за счет высокого содержания полиненасыщенных жирных кислот. Суммарное их содержание в 3 раза превышает рекомендованное количество для оздоровительного питания. Установлено высокое содержание эйкозапентаеновой и докозагексаеновых жирных кислот.

Ключевые слова: черноморская травяная креветка, комплекс ферментов, коллагенолитическая активность, жирные кислоты.

Введение

Биологически активные соединения, содержащиеся в гидробионтах, отличаются от аналогов этих соединений из других видов сырья более высокой физиологической активностью и в настоящее время применяются в различных областях народного хозяйства. В последние годы особое значение придается переработке непищевых отходов промысловых ракообразных, которые являются источником для получения коллагенолитических ферментов, биологически эффективных липидов, хитозана и его производных.

Коллагенолитические ферменты играют важную роль в таких физиологических процессах, как морфогенез, метаморфоз, резорбция и ремоделирование тканей, а также при ряде патологических состояний. Это – соединения, расщепляющие пептидные связи в

определенных участках спирализованных областей коллагена. В настоящее время известны два типа коллагеназ. Первый тип этого фермента синтезируется некоторыми микроорганизмами. Так, *Clostridium histolyticum* (бактерия, которая вызывает газовую гангрену) расщепляет полипептидную цепь коллагена более чем в 200 участках. Второй тип – это тканевые металлоколлагеназы, которые выявлены у ракообразных, земноводных и млекопитающих в растущих или подвергающихся метаморфозу тканей [1]. Особое положение занимают коллагенолитические протеиназы креветок, крабов, раков отряда десятиногих (*Decapoda*), класс ракообразные (*Crustacea*) типа членистоногие (*Arthropoda*). Коллагеназы являются пищеварительными ферментами и секретируются гепатопанкреасом, органом, совмещающим функции печени и поджелудочной железы в пищеварительном тракте *Decapoda*. Интерес к коллагеназам обусловлен уникальной и широкой их специфичностью по отношению к пептидным субстратам [1-3].

В последнее время коллагеназы широко используются в различных областях. Так, применение в пищевой промышленности обусловлено их способностью ускорять процессы созревания соленой рыбной продукции, размягчать консистенцию мяса таких моллюсков, как трубачи и рапана, повышать усвояемость комбикормов для личинок и мальков ценных пород рыб при их искусственном выращивании, а также в медицине для лечения ожогов, гнойно-трофических язв, послеоперационных рубцов, остеохондрозов и др. Наиболее изучены и применяются для практических целей коллагеназы и комплексные препараты из представителей промысловых ракообразных и связаны с утилизацией их отходов [1, 4-5].

Липиды гидробионтов играют важную роль в питании человека, обеспечивая организм не только энергией, необходимой для обмена веществ, но и выполняя роль регулятора обменных процессов. Поэтому в настоящее время содержанию липидов, составу их жирных кислот и фракций уделяют особое внимание. Отличительная особенность липидов гидробионтов проявляется в высоком содержании эссенциальных жирных кислот семейства ω : эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот [5-6]. Эти кислоты влияют на жировой обмен, нормализуют структуру и функцию мембран. Главная роль данных кислот в организме человека заключается в том, что они являются биохимическими предшественниками жизненно необходимых длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот, относящихся к частично незаменимым (эйкозопентаеновая, докозогексаеновая и арахидоновая) [7-8].

На основании вышеизложенного одной из актуальных проблем современности является поиск дополнительных источников сырья для получения коллагенолитических ферментов и биологически эффективных липидов.

В Украине черноморская травяная креветка *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 является наиболее массовым промысловым видом среди десятиногих ракообразных (отряд *Decapoda*), обитающих в Черном и Азовском морях [9-10]. В настоящее время вылов черноморской креветки не лимитируется, так как прогнозируемые объемы ее вылова не реализуются. Согласно прогнозам по вылову биологических ресурсов в Черном море, в Тилигульском, Будагском, Хаджибейском лиманах с затоками допустимый объем вылова этого вида креветки в 2018 г. может составить 510 т [10]. Однако, отсутствие технологий ее комплексной переработки ограничивает допустимые объемы вылова этого гидробионта. В связи с этим, исследования возможности утилизации непищевых частей тела черноморской травяной креветки для выделения из гепатопанкреаса черноморской травяной креветки *Palaemon adspersus* биологически активных соединений представляет особую актуальность.

Цель настоящих исследований заключалась в оценке эффективности выделения комплекса коллагенолитических ферментов (ККФ) и липидной компоненты, которая выделяется в качестве сопутствующей составляющей при экстракции ККФ из гепатопанкреаса *Palaemon adspersus*.

Объект исследования – гепатопанкреас черноморской травяной креветки, выловленной в начале сентября 2018 г. в Хаджибейском лимане Одесской области. ККФ и жирные кислоты (ЖК) выделяли по способу, описанному И. Ю. Сахаровым с соавторами [2] с использованием

охлажденного ацетона. В качестве сырья использовали гепатопанкреас креветки непосредственно после вылова и после хранения в замороженном виде при температуре -30°C на протяжении 6 месяцев.

Содержание белка в гепатопанкреасе черноморской травяной креветки определяли по методу Кьельдаля в соответствии с ГОСТ 7636-85 [11]. Минерализацию образцов проводили на анализаторе Velp Scientifica серии DK6 (Италия) с вакуумным насосом (JP). Процесс отгонки выполняли на аппарате Velp Scientifica UDK 129 (Италия).

Активность комплекса ферментов с ККФ коллагеназной активностью определяли при температуре $20-30^{\circ}\text{C}$ по методу Замысловой Т. И. с соавторами [3].

Массовую долю липидов определяли методом Блая-Дайера [12], качественный и количественный состав жирных кислот липидов – хроматографическим методом на хроматографе HRGC (Италия).

Методы исследования и полученные результаты

Одними из важнейших характеристик ферментов при выделении из сырья природного происхождения, являются их активность и массовая часть выхода. Эти показатели зависят от соотношения сырья и растворителя. Результаты оценки выхода белка и активности ККФ при различном соотношении сырья к ацетону (1:3...12) приведены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние соотношения гепатопанкреаса к ацетону на выход белка и активность ККФ из гепатопанкреаса черноморской креветки

Массовая часть ацетона	Выход белка, % от исходного его содержания	Активность ККФ, КЕ/мг
3	10 \pm 0,91	70 \pm 1,25
6	15 \pm 0,87	75 \pm 3,45
8	30 \pm 0,79	82 \pm 2,81
10	50 \pm 0,95	96 \pm 3,27
12	40 \pm 0,93	91 \pm 2,75

Наши данные свидетельствуют о том, что с увеличением массовой доли ацетона до 10 частей по отношению к сырью отмечается максимальный выход белка из гепатопанкреаса креветки – 50% от белка и наиболее высокая активность ККФ – 96 КЕ/мг. Согласно литературным данным, активность коллагенолитических ферментов из камчатского краба составляет от 100 до 104 КЕ/мг [4], то есть практически соответствует результатам наших исследований и показывает возможность выделения этих ферментов из черноморской травяной креветки.

В связи с тем, что промысел черноморской креветки имеет сезонный характер, осуществляется в весенний и осенний периоды года, сырье замораживают при -30°C хранят при -18°C на протяжении 6 и более месяцев. В связи с этим представляет интерес определение влияния срока хранения замороженной черноморской креветки на активность ККФ.

Результаты наших исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2

Зависимость активности ККФ от срока хранения черноморской креветки в замороженном состоянии

Срок хранения, мес.	Активность ККФ, КЕ/мг
1	90 \pm 2,93
2	88 \pm 1,86
3	85 \pm 2,05
4	80 \pm 3,03
5	76 \pm 2,97
6	69 \pm 2,54

Наши данные подтверждают установленные закономерности снижения активности ферментов при хранении сырья в замороженном состоянии. Замораживание сопровождается денатурационными изменениями белковых компонентов сырья, что приводит к уменьшению

активности ферментов. Из этих результатов следует, что для выделения ККФ можно использовать замороженную черноморскую креветку до 4-х месяцев хранения. Нами показано, что после этого срока хранения наблюдается снижение активности ККФ на 16,7 % по сравнению с показателями из свежего сырья и на 11,2 % из сырья после 1 месяца хранения в замороженном состоянии (табл.1, 2). Эти данные согласуются с представлениями о влиянии замораживания на денатурацию белков, которая может приводить к снижению активности ферментов и уменьшению их выхода при выделении.

Таким образом, результаты наших исследований показали возможность выделения комплекса ферментов с коллагенолитической активностью из свежевывловленной черноморской креветки, а также из этого вида сырья в замороженном состоянии при его хранении до 4-х месяцев.

При экстракции гепатопанкреаса ацетоном в качестве сопутствующего компонента выделяется липидная фракция. Ранее нами было показано, что содержание липидов в гепатопанкреасе черноморской травяной креветки составляет 11,5 % от общего химического состава [13-14]. Известно, что липиды ракообразных характеризуются высоким содержанием жирных кислот ω_3 [4-5]. Результаты наших исследований жирнокислотного состава липидной фракции гепатопанкреаса черноморской креветки подтверждают эти данные (табл. 3).

Таблица 3

Сравнительная характеристика жирнокислотного состава липидов черноморской травяной креветки и антарктического криля

Жирные кислоты	Массовая часть жирных кислот, % от суммы жирных кислот		Рекомендованное количество, г/день [15]
	Черноморская травяная креветка	Антарктический криль [6]	
Насыщенные, в т. ч.	30,08	39,10	25
C 12:0	0,10	0,30	
C 14:0	12,34	16,6	
C 15:0	0,25	0,60	
C 16:0	15,90	20,40	
C 18:0	1,30	1,10	
C 22:0	0,19	0,10	
Мононенасыщенные, в т. ч.	36,56	30,70	30
C 14:1 ω_5	1,23	0,30	
C 15:1	0,35	0,10	
C 16:1 ω_7	10,45	9,00	
C 17:1	0,74	0,50	
C 18:1 ω_9	22,84	20,00	
C 20:1	0,95	0,80	
Полиненасыщенные, в т. ч.	33,36	30,20	11
C 18:2 ω_6	1,92	2,50	
C 18:3 ω_3	0,91	1,30	
C 18:4	1,24	2,80	
C 20:3	0,21	0,60	
C 20:4 ω_3	0,56	0,80	
C 20:5 ω_3	14,27	13,70	
C 22:4	0,95	0,30	
C 22:5	1,19	0,20	
C 22:6 ω_3	12,11	8,00	

Анализ результатов исследований свидетельствует о том, что липиды черноморской травяной креветки по суммарному содержанию основных классов жирных кислот не обнаруживают существенных отличий от липидов антарктического криля. Липиды исследуемых нами ракообразных по содержанию полиненасыщенных жирных кислот превалируют рекомендованное содержание [7, 15] в 3 раза за счет высокого содержания

жирных кислот семейства ω_3 . Их количество в липидах креветки составляет 27,85 %, в антарктическом криле – 23,8 % [6]. Известно, что в рационе питания современного человека дефицитными являются именно жирные кислоты семейства ω_3 [8, 15-16]. Поэтому липиды черноморской травяной креветки по составу относятся к биологически эффективным и определяют целесообразность гепатопанкреаса черноморской травяной креветки в качестве источника жирных кислот ω_3 .

Заклучение

Результаты исследований выделения из гепатопанкреаса черноморской травяной креветки ферментов с коллагенолитической активностью и биологически эффективных липидов показали целесообразность использования этого вида сырья для получения биологически активных соединений. В дальнейших исследованиях планируется совершенствование технологий выделения, очистки и оценки применения этих соединений в пищевой промышленности, медицине и сельском хозяйстве.

References:

1. Rudenkaya G. N. Braxiurini – serinovie kollagenoliticheskie fermenti krabov // Bioorganicheskaya ximiya. – 2003. – Т.29, №2. – С.117–128.
2. A.s. №1526226 А2. Sposob polucheniya kollagenazi / I. Yu. Saxarov, F. E. Litvin., A. A. Artyukov, N. N. Kofanova // Byul.№17. – 1993. – №9/64 (46) – С. 12.
3. Pat. RF №2034029 Sposob opredeleniya aktivnosti neytralnoy kollagenazi / T. I. Zamislova, L. V. Kuxareva, B. I. Feygelman. Opubl.: 30.04.1995. – URL: <http://www.findpatent.ru/patent/203/2034029.html>
4. Lebskaya T. K. Ximicheskij sostav i bioximicheskie svoystva kamchatskogo kraba v Barenstevom more. Kamchatskiy krab v Barenstevom more. Izd. 2-e, pererab. i dop. – Murmansk: Izd-vo PINRO, 2003. – С. 292–299.
5. Lebska T. K. Texnologiya galuzi. Chastina 1. Sirovina ribnoї promislovosti: Navchalno-metodichnij posibnik – K.: TOV «AGRAR MEDIA GRUPP», 2012. – 242 s.
6. Spravochnik Antarkticheskij kril / pod red. V. M. Bikova, 2001. – 208 s.
7. Циприян В. И., Матарс И. Т., Слбодкин В. И. Гигиена xarchuvannya z osnovami nutritsiologii. Kniga 2: pidruchnik u 2 knigax / za redakstieyu prof. V. I. Stipriyana. – K.: Medistina, 2007. – 544 s.
8. Omega-3 fatty acids: How much is enough? [Elektronnij resurs] – Rejim dostupu : <http://www.latimes.com/features/health/la-he-omega-3s-how-much-20100426,0,1610782.story>
9. Boltachev A. R., Statkevich S. V., Karpova E. P., Xutorenko I. V. Chernomorskaya travyanaya krevetka Palaemon adspersus (Decapoda, Palaemonidae). Biologiya, promisel, problemi // Voprosi ribolovstva. –2017. – t.18, №3. – С. 313–327.
10. Vilov za 2017 rik e naybilshim za ostanni 2 roki / Derjavne upravlinnya ribnogo gospodarstva Ukraїni. [Elektronnij resurs] – Rejim dostupu: http://Darg.gov.ua/_vilov_za_2017_rik_je_0_0_0_5584_1.html.
11. GOST 7636–85. Riba, morskije mlekopitayushie, morskije bespozvonochnie i produkti ix pererabotki. Metodi analiza. [Vveden 1986–01–01]. – M.: Izd-vo standartov, 1985. – 75 s.
12. Blight E. G. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of biochemistry and physiology. –1959. –Vol. 8, Is. 37.– P.129–141.
13. Bal-Prilipko L. V., Lebskiy S. O. Pишевая i biologicheskaya stennost chernomorskoy travyanoy krevetki Ralaemon adspersus // Prodovolcha industriya APK. – 2018. – №5. – С. 28–31.
14. Bal-Prilipko L. V., Starkova E. R., Lebskiy S. O., Andрущук O. S. Aktualni problemi ribopererobnoї galuzi: monografiya. – K.: StP «Komprint», 2018. – 214 s.
15. Опищенко G. G. Rastionalnoe pitanie. Rekomenduemie uroni potrebleniya pишеvix i biologicheskix aktivnix veshchestv. URL: http://www.businesspravo.ru/Docum/DocumShow_DocumID_97295.html (data zvernennya: 03.02.2017).
16. Smolyar V. I. Stan faktichnogo xarchuvannya naseleynna nezalejnoї Ukraїni // Problemi xarchuvannya. –2012. – № 1–2. – С. 59.