

*Биология*

УДК 547.466

М.А. ДАВТЯН, С.А. КАРАПЕТЯН, М.А. ХАЧАТРЯН, Г.А. СЕМЕРДЖЯН

**АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ОВЦЫ**

Исследован аминокислотный состав гидролизатов белков плазмы крови овцы с целью применения их при парентеральном питании в различных условиях гидролиза. Наибольший выход аминокислот наблюдается при 32-часовом гидролизе, что составляет 5,294г на 100мл плазмы.

Представленная работа является продолжением исследований [1–4], которые ведутся на кафедре биохимии ЕГУ с целью получения аминокислотных смесей из отходов пищевой промышленности для применения их при парентеральном питании. В настоящее время значительное место отводится максимальному использованию вторичных ресурсов, доля которых в производственном потреблении пока невелика. Парентеральное применение аминокислот было предложено еще в 1915 году Вудиатом и сотрудниками [5]. Весьма эффективным является использование белковых гидролизатов, полученных при помощи кислотного гидролиза, обогащенных триптофаном и цистином.

С этой точки зрения получение из белков плазмы крови овцы аминокислотной смеси для удовлетворения потребностей парентерального питания представляет практический интерес.

**Методы исследований.** Белковый кислотный гидролизат получали в пробирке с обратным холодильником в 6*N* HCL при 105°C. После гидролиза (12, 24 и 32 ч.) HCL удаляли путем многократной отгонки с водой в вакууме. Остаток растворяли в определенном объеме 10% изопропилового спирта, центрифугировали и в надсадке определяли аминокислоты методом хроматографии на бумаге одномерным нисходящим способом. Растворитель: бутанол–уксусная кислота–вода в соотношении 4:1:1. Проявителем служил 0.2% раствор нингидрина в ацетоне. Количественное определение аминокислот проводилось по методу Лисицки, Лоурента [6], а фракционирование их и белков – ионообменной хроматографией на катионите КУ 2–8 и гель-фильтрацией на сефадексе G–50.

Белок определяли как спектрофотометрически (СФ-16), так и методом Лоури [7].

**Результаты и обсуждения.** Плазма крови состоит из 90–92% воды и 8–10% сухого вещества – в основном из белков и солей. Она составляет 55–60% объема крови, а остальные 40–45% – это форменные элементы. Общее количество белков крови составляет 7–8%, которые отличаются своими свойствами и функциональным значением: альбумины – 4.5%, глобулины –  $\alpha_1, \alpha_2, \beta, \gamma$  – 1.7–3.3% и фибриноген – 0.4%. Плазму, которая представляет собой желтоватую жидкость, выделяют из крови, предварительно добавив в нее противосвертываемое вещество (гепарин), методом центрифугирования.

С целью выяснения природы компонентов, входящих в состав азотсодержащих соединений, были предприняты исследования по определению белков, аминокислот (свободных и структурных). Белки плазмы крови овцы отделяли методом осаждения сульфатом аммония (80% насыщение), количество их, определенное методом Лоури, составляет 6.94г, в осадке 6.28г, в надосадке 0.36г на 100мл плазмы.

Бумажной хроматографией методом падающего и усиливающегося пятна с использованием аминокислот (свидетелей) нами были идентифицированы свободные аминокислоты надосадка плазмы крови овцы. Согласно данным хроматограммы (табл. 1), сумма свободных аминокислот составляет 1.575г на 100мл плазмы, значительную часть – глутаминовая кислота (12.7%), аланин (10.54%), фенилаланин (7.80%), аспарагиновая кислота (6.66%), лейцин (6.35%), треонин (6.28%), валин (6.22%).

Таблица 1

Свободные аминокислоты плазмы крови овцы

Аминокислоты	г на 100мл плазмы	Доля в общей сумме, %
цистеин	0.070	4.42
лизин	0.064	4.06
гистидин	0.092	5.84
аргинин	0.080	5.08
аспарагиновая кислота	0.105	6.66
серин	0.060	3.81
глицин	0.087	5.52
треонин	0.099	6.28
глутаминовая кислота	0.20	12.70
аланин	0.166	10.54
тирозин	0.072	4.57
триптофан	0.070	4.72
валин	0.098	6.22
метионин	0.086	5.46
фенилаланин	0.126	7.80
лейцин	0.10	6.35
сумма	1.575	99.73

С целью частичной очистки белков плазмы крови овцы от сульфата аммония и других низкомолекулярных соединений проводилось фракционирование методом гельфильтрации на сефадексе G-50. Белки определялись как спектрофотометрически, так и методом Лоури, что составляет 6.58г на 100мл плазмы.

Таблица 2

Аминокислотный состав белков плазмы крови овцы при различных условиях кислотного гидролиза (г на 100мл плазмы)

Аминокислоты	12ч		24ч		32ч	
	АК	доля, %	АК	доля, %	АК	доля, %
цистеин	0.080	2.84	0.122	3.35	0.160	3.02
лизин	0.115	4.08	0.240	6.59	0.30	5.66
гистидин	0.250	8.88	0.305	8.38	0.382	7.21
аргинин	0.165	5.86	0.20	5.49	0.232	4.38
аспарагиновая кислота	0.140	4.97	0.220	6.04	0.248	4.68
серин	0.20	7.10	0.250	6.87	0.429	8.11
глицин	0.120	4.26	0.125	4.12	0.274	5.18
треонин	0.10	3.55	0.190	3.43	0.240	4.53
глутаминовая кислота	0.250	8.88	0.290	7.96	0.484	9.14
тирозин	0.180	6.39	0.290	7.96	0.40	7.55
аланин	0.195	6.93	0.224	6.15	0.374	7.06
валин+метионин	0.40	14.21	0.505	13.87	0.668	12.6
фенилаланин	0.480	17.05	0.520	14.28	0.820	15.48
лейцин	0.140	4.97	0.200	5.49	0.283	5.34
сумма	2.815	99.97	3.641	99.98	5.294	99.94

Таблица 3

Аминокислотный состав белковых гидролизатов плазмы крови овцы после пропускания через катионообменник (КУ 2-8)

Аминокислоты	г на 100мл плазмы	Доля в общей сумме, %
цистеин	0.140	2.77
лизин	0.295	5.84
гистидин	0.350	6.93
аспарагиновая кислота	0.240	4.75
серин	0.395	7.82
глицин	0.270	5.35
треонин	0.225	4.45
глутаминовая кислота	0.470	9.31
аланин	0.350	6.93
тирозин	0.385	7.62
валин	0.30	5.94
метионин	0.350	6.93
фенилаланин	0.780	15.44
лейцин	0.280	5.54
аргинин	0.220	4.36
сумма	5.050	99.98

В следующей серии экспериментов частично очищенные белки плазмы крови овцы подвергались кислотному гидролизу, который осуществляли в присутствии 6*N* соляной кислоты при температуре 105°C в течение 12, 24 и 32 ч., соотношение белков с кислотой – 1:10.

В гидролизатах белков плазмы крови овцы в исследованных сроках гидролиза проявлены все идентифицированные нами аминокислоты. Согласно данным табл. 2, наибольший выход аминокислот наблюдается при 32-часовом гидролизе и составляет 5.294г на 100мл плазмы. Данные аминокислотного состава белков плазмы показывают (32ч), что в общей сумме значительную долю составляют глутаминовая кислота, аланин, гистидин, валин+метионин, фенилаланин, серин, тирозин. В гидролизате белков плазмы крови овцы (32ч) присутствуют все идентифицированные незаменимые аминокислоты, которые составляют в общей сумме 55.2%. В 12- и 24-часовых гидролизатах наблюдается сравнительно небольшой выход аминокислот, что обусловлено неполным гидролизом.

Для частичной очистки аминокислотной смеси мы использовали метод ионообменной хроматографии с применением колонок, наполненных натриевыми сульфополистирольными катионитами (КУ 2–8). Белковый гидролизат плазмы крови овцы (32ч) после пропускания через колонку с катионообменником качественно остается почти таким же, каким он был до этого (табл. 3).

В смеси преобладают глутаминовая кислота, фенилаланин, аланин, тирозин, гистидин, метионин, валин, серин. Наблюдается наличие всех идентифицированных незаменимых аминокислот, которые в общей сумме составляют 55.43%. Выход их составляет 5.050г на 100мл плазмы.

Проведенные нами ранее исследования по получению белковых гидролизатов из отходов сахарного [1], молочного [2] производств и из плазмы крови коровы [3], свиньи [4] показали, что сахарная меласса богата валином и метионином, не содержит фенилаланина, незначительно количество лизина, в молочной же сыворотке больше лизина, фенилаланина, лейцина, треонина, мало валина и метионина, в плазме крови коровы и свиньи представлены все незаменимые аминокислоты, которые составляют соответственно 50.64 и 42.53% от общей суммы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Т.Г., Карапетян С.А., Хачатрян М.А. – Биолог. ж. Армении, 1995, т. 38, № 1.
2. Давтян М.А., Карапетян С.А., Хачатрян М.А., Семерджян Г.А. – Ученые записки ЕГУ, 2000, № 2.
3. Սարգսյան Շ., Կարապետյան Ս. Խաչատրյան Մ. – Երիտասարդ գիտնականների ժողովածու, բնական գիտություններ, ԵՊՀ, 2000, № 2.
4. Դավթրյան Մ.Ա., Խաչատրյան Մ.Հ., Կարապետյան Ս.Ա., Սեմերջյան Հ.Հ. – ԵՊՀ Գիտական տեղեկագիր, 2002, № 1.
5. Weodyatt R.T., Sansum W.D., Wider R.M. – YAMA, 1915, v. 65, p. 2067.
6. Lissitzky R.S., Laurent – Bull. Soc. Biol., 1955. v. 37, p. 1177.
7. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии. М., 2000.

Մ.Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Ս.Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Մ.Հ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Հ.Հ. ՍԵՄԵՐՉՅԱՆ

ՈՉԽԱՐԻ ԱՐՅԱՆ ՊԼԱԶՄԱՅԻ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ  
ԱՄԻՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԿԱԶՄԸ

Ամփոփում

Ուսումնասիրվել է ոչխարի արյան պլազմայի սպիտակուցների հիդրոլիզատների ամինաթթվային կազմը՝ այն պարենտերալ սնուցման համար կիրառելու նպատակով: Ստացվել են սպիտակուցի թթվային հիդրոլիզատներ հիդրոլիզի տարբեր պայմաններում: Ամինաթթուների ամենաբարձր ելքը դիտվել է 32-ժամյա հիդրոլիզի ժամանակ, որը կազմում է 5.294g 100մլ պլազմայում:

M.A. DAVTYAN, S.A. KARAPETYAN, M.H. KHACHATRYAN, H.H. SEMERJYAN

THE AMINO ACID FORMATION OF THE SHEEP BLOOD SERUM

Summary

The amino acid formation of protein hydrolyzates of the sheep blood serum has been investigated for the purpose of using them in the parenteral nutrition. The acidic hydrolyzates of proteins were the results of different hydrolyzation. The highest results of the amino acid was observed during 32 hours hydrolyzation, which is 5.294g per 100ml blood serum.