

ЕКСПРЕС-МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ А-АМІЛАЗИ В БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ДОБАВКАХ ТА ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ

Лашко Н.П., к.х.н., ст.викладач, *Шапаренко Л.Г., к.б.н.,
Чаусовський Г.О., к.т.н., доцент, *Головаха В.Я., пров.фах., Рябенко В.Ю., студент

*Запорізький національний університет
Інститут механізації тваринництва УААН(м. Запоріжжя)

У статті експериментально підтверджена доцільність використання експрес-методу Зілової І.С. для визначення наявності α -амілази в складі продуктів харчування та біологічно активних добавок. Визначена активність α -амілази в запропонованій одиниці вимірювання: кількість грамів крохмалю, який гідролізується за 1 годину при 37⁰С в розрахунку на 1 капсулу (1 порцію) продукту, що дозволяє оцінити ефективність продукту в реальних умовах його використання. Розроблений детальний алгоритм практичного визначення активності α -амілази в харчових продуктах та біологічно активних добавках.

Ключові слова: біологічно активні добавки, активність α -амілази, експрес-метод Зілової І.С., харчові добавки.

Лашко Н.П., *Шапаренко Л.Г., Чаусовский Г.О., *Головаха В.Я., Рябенко В.Ю. ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ А-АМИЛАЗЫ В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ И ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ/ Запорожский национальный университет, *Институт механизации животноводства УААН, Украина

В статье экспериментально подтверждена целесообразность использования экспресс-метода Зиловой И.С. для определения наличия α -амилазы в составе продуктов питания и биологически активных добавок. Определена активность α -амилазы в предложенной единице измерения: количества грамм крахмала, который гидролизует за 1 час при 37⁰С в расчете на 1 капсулу (1 порцию) продукта, что позволяет оценить эффективность продукта в реальных условиях его использования. Разработан детальный алгоритм практического определения активности α -амилазы в пищевых продуктах и биологически активных добавках.

Ключевые слова: биологически активные добавки, активность α -амилазы, экспресс-метод Зиловой И.С., пищевые добавки.

Lashko N.P., *Shaparenko L.G., Chausovskiy G.O., *Golovakha V.Y., Ryabenko V.U. EXPRESS-METHOD OF DETERMINATION OF ACTIVITY α -AMYLASES IN BIOACTIVE ADDITIONS AND FOODS OF FEED/ Zaporizhzhya national university, *Institute of mechanization of stock-raising of UAAH, Ukraine

In the article the experimentally confirmed expediency of the use of expressmethod of Зиловой И.С. for determination of presence α is amylases in composition foods of feed and bioactive additions. Certain activity α is amylases in the offered unit: amounts gramme of starch, which гидролизует за 1 hour at 37⁰С calculating on a 1 capsule (1 portion) of product which allows to estimate efficiency of product in the real terms of his use. The detailed algorithm of practical determination of activity α is worked out are amylases in food foods and bioactive additions.

Keywords: bioactive additions, activity α -amylases, express-method of Zilovoy I.S., food additions.

ВСТУП

Останнім часом ринок продовольчих товарів пропонує споживачу велику кількість традиційних, спеціалізованих, функціональних харчових продуктів та біологічно активних добавок, до складу яких входять амілолітичні ферменти, а саме α -амілаза. Ферментні препарати широкого використовують як засіб переробки харчової сировини, так як і харчову добавку – для поліпшення якості готової продукції [1,2]. Фермент α -амілаза (α -1,4-глюкангідролаза) гідролізує α -1,4-глюконові зв'язки крохмалю з утворенням декстринів і мальтози. Це дозволяє розглядати харчові продукти з вмістом α -амілази як такі, що можуть використовуватись для профілактики шлунково-кишкових захворювань.

При контролі якості таких продуктів виникає необхідність розробки надійного, простого, експресного методу визначення наявності та активності α -амілази в їх складі. Такий метод був запропонований Зіловою І.С. та співавторами [3]. Даний метод є модифікацією офіційного стандартного методу визначення активності α -амілази (ДСТУ 20264.4-89) [4].

Слід відмітити такі позитивні аспекти методу І.С.Зілової:

1. Фіксування забарвлення розчинів у кольоровій реакції за допомогою 0,5% хлоридної кислоти дозволяє зняти жорсткі вимоги до витримування чітких часових інтервалів при проведенні кольорової реакції, як це робиться в стандартному методі.
2. Проведення інкубації (гідролізу) крохмалю при 370С (на відміну від стандартних 300С) значно підвищує швидкість гідролізу і прискорює одержання результату.
3. Запропонована одиниця вимірювання : кількість грамів крохмалю гідролізованого за 1 годину при 370С у розрахунку на 1 капсулу або порцію продукту дозволяє оцінити ефективність продукту в реальних умовах його використання .

У зв'язку з цим, метою нашої роботи було експериментальне підтвердження можливості використання експрес-методу Зілової І.С. саме для оперативного визначення наявності та активності α -амілази в біологічно активних добавках , хлібі та кондитерських виробках різних українських виробників.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Як об'єкти дослідження були обрані біологічно активні добавки «Біозин» та «Віта-Візіон» фірми Віталайн(США), а також хліб «Приморський» та «Чорноморський» (Запорізький завод «Хлібодар») і печиво «Бісквітне» та «Дієтичне» (Харківська кондитерська фабрика «Бісквіт»). Визначення вмісту і активності α -амілази у вибраних продуктах проводили згідно з експрес-методом Зілової І.С. [3].

При розрахунку активності α -амілази враховували, що для проведення реакції гідролізу у всіх випадках використовували 60 мг крохмалю і 0,25 мл екстракту досліджуваного продукту (відповідно 0,005 частину вихідного об'єму екстракту) . За графіком змінення оптичної густини екстрактів досліджуваних продуктів знаходили час завершення гідролізу 60 мг крохмалю. Одержаний результат перераховували на кількість грамів крохмалю, що гідролізується за 1 годину в розрахунку на 1 порцію (1капсулу) продукту.

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Експериментальні результати визначення активності α -амілази в біологічно активних добавках «Біозин» і «Віта-Візіон» представлені в табл. 1, 2 та на рис.1, 2 .

Таблиця 1 – Змінення інтенсивності забарвлення з часом у зразках біологічно активної добавки «Біозин» (P=0,95 ; n=5)

Показник	Час гідролізу крохмалю, секунди						
	0	30	60	90	120	150	180
Оптична густина розчину, D.	0,470 ±0,026	0,420 ±0,070	0,372 ±0,019	0,285 ±0,012	0,213 ±0,019	0,170 ±0,011	0,100 ±0,015

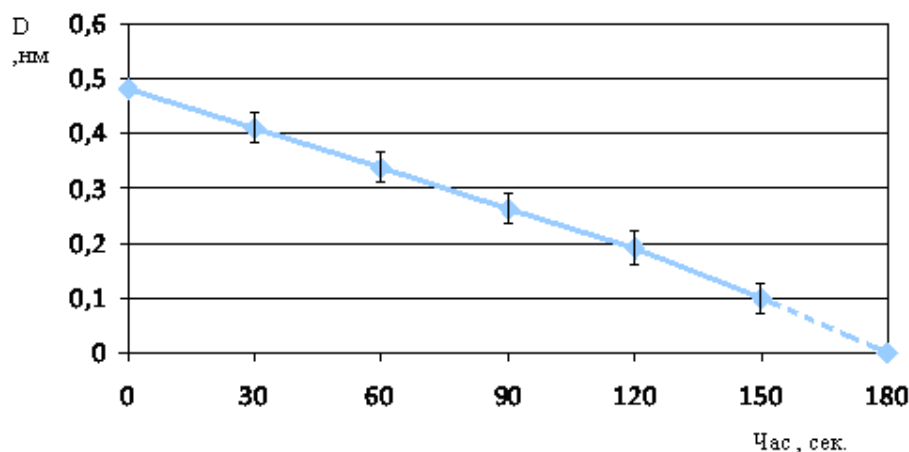


Рис. 1. Динаміка змінення оптичної густини розчину біологічно активної добавки «Біозин».

Таблиця 2 – Змінення інтенсивності забарвлення з часом у зразках біологічно активної добавки «Віта-Візіон» ($P=0,95$; $n=5$).

Показник	Час гідролізу крохмалю, хвилини					
	0	5	10	15	20	25
Оптична густина, D	0,950 $\pm 0,025$	0,750 $\pm 0,018$	0,580 $\pm 0,016$	0,440 $\pm 0,020$	0,300 $\pm 0,016$	0,180 $\pm 0,015$

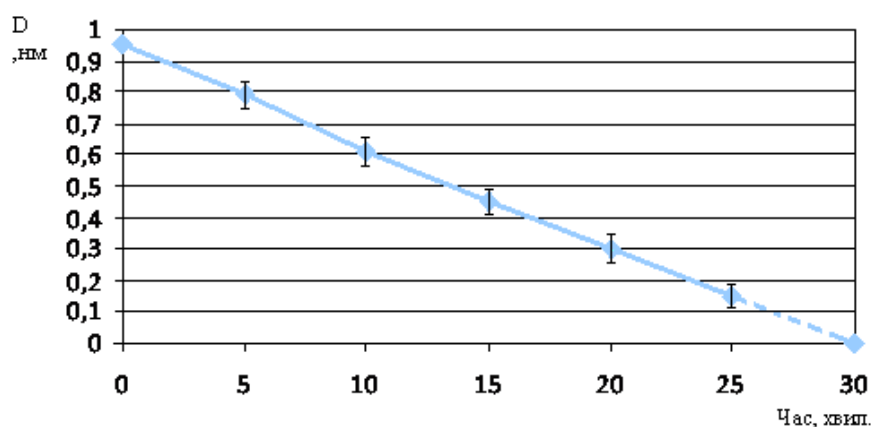


Рис. 2. Динаміка змінення оптичної густини розчину біологічно активної добавки «Віта-Візіон».

Для розрахунку активності α -амілази в біологічно активних добавках необхідно враховувати, що 1 капсула добавки була розчинена в 50 мл фосфатного буферу. Для інкубації було відібрано 0,25 мл цього розчину (відповідно 0,005 частину вмісту капсули).

З рис.1 видно, що швидкість гідролізу крохмалю становить 60 мг крохмалю за 3 хвилини, з рис. 2 – 60 мг за 30 хвилин. У перерахунку на 1 капсулу і 1 годину часу одержуємо (таблиця 3), що α -амілаза в цілій капсулі біологічно активної добавки «Біозин» при рН 4,7 та $t=37^{\circ}\text{C}$ гідролізує крохмаль зі швидкістю 240 г/годину, в капсулі біологічно активної добавки «Віта-Візіон» - зі швидкістю 24 г/годину.

Таблиця 3 – Активність α -амілази в біологічно активних добавках (pH=4,7, t=37°C)

Препарати БАД фірм	Об'єм загального зразка, мл	Об'єм для інкубації, мл /частина капсули	Час гідролізу, хв.	Активність α -амілази (г/годину)
«Біозін» (1 капсула)	50	0,25/0,005	3	240
«Віта-Візіон» (1 капсула)	50	0,25/0,005	30	24

Експериментальні результати експрес-визначення активності α -амілази в хлібі і печиві представлені в табл.4 , 5 та на рис. 3 , 4 .

Таблиця 4 – Змінення інтенсивності забарвлення з часом у зразках хлібних екстрактів (P=0,95 ; n=5).

Показник	Час гідролізу крохмалю , хвилини				
	0	5	10	15	20
Білий хліб «Приморський»					
Оптична густина, D	0,900 $\pm 0,061$	0,700 $\pm 0,016$	0,530 $\pm 0,011$	0,380 $\pm 0,015$	0,180 $\pm 0,015$
Сірий хліб «Чорноморський»					
Оптична густина, D	0,810 $\pm 0,048$	0,600 $\pm 0,019$	0,430 $\pm 0,023$	0,240 $\pm 0,031$	0,080 $\pm 0,001$

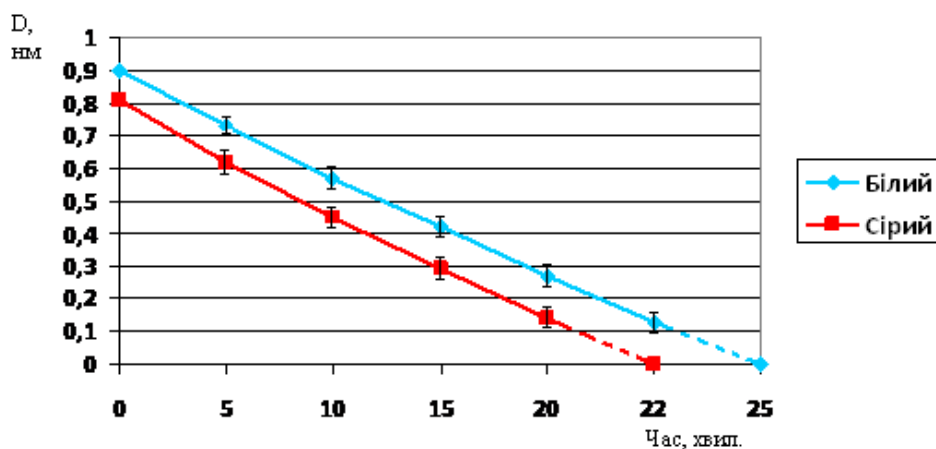


Рис. 3. Динаміка змін оптичної густини з часом хлібних екстрактів

Таблиця 5 – Змінення інтенсивності забарвлення в зразках екстрактів печива (P=0,95 ; n=5).

Показник	Час гідролізу крохмалю, хвилини					
	0	2	4	6	8	10
Печиво «Бісквітне»						
Оптична густина, D	0,680 $\pm 0,015$	0,600 $\pm 0,019$	0,530 $\pm 0,011$	0,480 $\pm 0,016$	0,400 $\pm 0,027$	0,360 $\pm 0,029$
Печиво «Дієтичне»						
Оптична густина, D	0,760 $\pm 0,023$	0,630 $\pm 0,016$	0,510 $\pm 0,018$	0,400 $\pm 0,021$	0,280 $\pm 0,019$	0,110 $\pm 0,015$

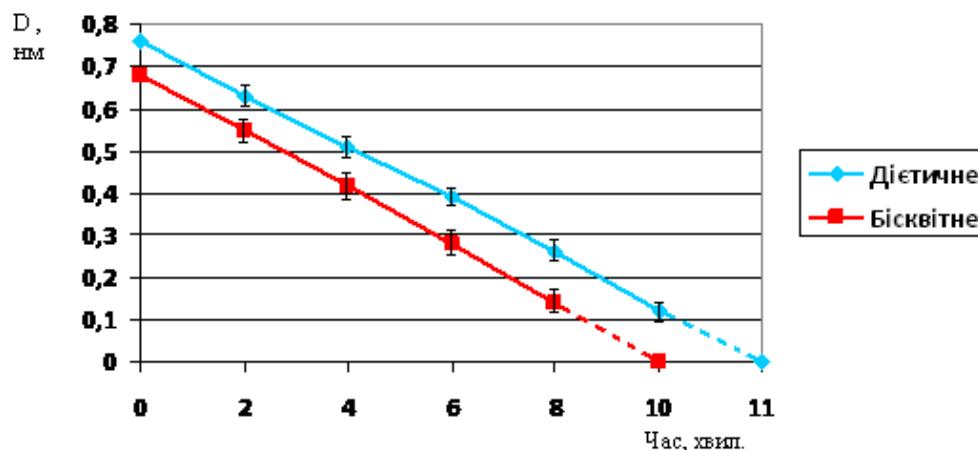


Рис. 4. Динаміка змінення оптичної густини екстрактів печива

Для розрахунку активності α -амілази в хлібі та печиві необхідно враховувати, що наважка продукту 10 грам була розчинена в 50 мл фосфатного буфера і для гідролізу крохмалю було відібрано 0,25 мл зразка (відповідно 0,005 частину вихідного об'єму).

Швидкість гідролізу крохмалю становить 60 мг за 25 хвилин у зразках білого хліба «Приморський» та 60 мг за 22 хвилини в зразках сірого хліба «Чорноморський». У зразках печива «Бісквітне» швидкість гідролізу крохмалю становить 60 мг за 10 хвилин та 60 мг за 11 хвилин печива «Дієтичне». У перерахунку на 1 порцію продукту і 1 годину одержуємо результати, що представлені в табл. 6.

Таблиця 6. – Активність α -амілази в 1 порції харчових продуктів ($\text{pH}=4,7$, $t=37^{\circ}\text{C}$)

Продукт	Активність амілази, г / годину
Білий хліб «Приморський»	288
Сірий хліб «Чорноморський»	328
Печиво «Бісквітне»	378
Печиво «Дієтичне»	477

ВИСНОВКИ

1. Експериментально підтверджена доцільність використання експрес-методу Зілової І.С. для визначення наявності α -амілази в складі продуктів харчування та біологічно активних добавках.
2. Показано, що запропонований експрес-метод дає можливість кількісно оцінити активність α -амілази в різних продуктах харчування.
3. Для практичного використання методу Зілової І.С. у виробничих умовах розроблений детальний алгоритм його практичної реалізації, який пройшов успішні виробничі випробовування в умовах хімічної лабораторії агрохімічних досліджень Інституту Механізації Тваринництва Академії Аграрних наук України (м. Запоріжжя).

ЛІТЕРАТУРА

1. Гизлер М. А. Амилолитические ферменты и их роль в пищевой промышленности: учеб. пособие/ Гизлер М.А. – М.: Пищепром, 1953. – 220 с.

2. Жеребцов Н.А. Амилолитические ферменты в пищевой промышленности: учебник / Жеребцов Н.А. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 159 с.
3. Вировец О.А., Зилова И.С. Экспресс-метод определения альфа-амилазы в специализированных пищевых продуктах и биологически активных добавках к пище./ Вировец О.А., Зилова И.С. // Вопросы питания. – 2009. – том 78.- №1. – С. 84–86.
4. Препараты ферментные. Методы определения амилолитической активности. ГОСТ 20264.4-89 – Государственный Комитет СССР по стандартам. – Изд.официальное, Москва. – 1989.