

Сведения об авторах

А.К. Какимов – доктор технических наук, профессор кафедры «Технологическое оборудование и машиностроение»; Университет имени Шакарима города Семей, Республика Казахстан; e-mail: bibi.53@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9607-1684>.

А.К. Суйчинов – доктор PhD, директор СФ ТОО «Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности»; e-mail: asuychinov@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4862-3293>.

Ж.С. Есимбеков – доктор PhD, руководитель проекта СФ ТОО «Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности»; e-mail: ezhanibek@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8556-9954>.

Б.К. Кабдылжар – научный сотрудник СФ ТОО «Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности»; e-mail: baktybala.20@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7935-0182>.

Д.А. Акимова – докторант; Университет имени Шакарима города Семей, Республика Казахстан; e-mail: akdilife@mail.ru.

DOI: 10.53360/2788-7995-2022-4(8)-4

FTAXP: 62.39.02

Ж. Серғалиқызы*, Н.С. Мамытова

әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университеті,
050040, Қазақстан Республикасы, Алматы қ., әл-Фараби даңғылы, 71
*e-mail: zhansayasss1@gmail.com

БИДАЙ ДӘНДЕРІНДЕГІ АМИЛАЗА ЖӘНЕ СУБТИЛИЗИН ИНГИБИТОРЛАРЫНЫҢ БЕЛСЕНДІЛІКТЕРІН АНЫҚТАУ

Аңдатпа: Бұл мақалада тыныштық күйдегі бидай дәндерінің өскіндеріндегі амилаза ингибиторының белсенділігі және әртүрлі бидай сорттарындағы субтилизин ингибиторының сандық құрамының айырмашылығы қарастырылады. Зерттеу жұмысы осы тақырып аясындағы отандық және шетелдік мақалаларды негізге ала отырып жасалды. Дәнді дақылдардың дәндері протеазалар мен амилазалардың әртүрлі белоктық ингибиторларын синтездеп, жинақтауға қабілеті бар. Ингибиторлар фитопатогендердің өсімдікке зиян тигізуін алдын алудың тиімді механизмі болып табылады, себебі ингибитордың фитопатоген гидролазаларының белсенділігін тежей алу қасиеті бар. Патоген микроорганизмнің ферментін инактивирлеу арқылы өсімдіктің тұрақтылығын және төзімділік қасиеттерін жоғарылатуға мүмкіндік береді. Ингибиторлар негізінен өсімдіктің зақымдану кезінде және патогендер мен жәндіктерге қарсы тұра алатын функциясы бар екені анықталған. Қазіргі уақытта серінді протеиназалардың ингибиторлары тереңірек зерттелген болып саналады. Амилаза ингибиторлары жөнінде салыстырмалы түрде ақпарат азырақ. Және зерттеушілердің өте үлкен қызығушылығын туғызған ол-бифункционалды ингибитор. Яғни бір-біріне байланысы жоқ өскіндердегі α -амилазаны және серінді протеаза субтилизинді ингибиторлауға қасиеті бар. Ингибитордың зерттеудің қызығушылығы артудың басты мәселесі оларды ауру қоздырғыштары мен зиянкес жәндіктерге қарсы күрес кезінде пайдалану және патогендерге төзімділік қасиеті артқан трансгенді өсімдіктерді алу.

Түйін сөздер: ингибитор, бифункционалды ингибитор, амилаза, субтилизин, патоген, бидай.

Кіріспе

Дәнді дақылдарда белоктық табиғаты бар әртүрлі ингибиторлар болады. Олардың көбісі бактериялардың, жәндіктердің және сүтқоректілердің экзогенді α -амилазаларына қарсы белсенділік танытады. Ингибиторлар тобын өсімдіктің қорғаныш функциясын атқаратын компоненттер қатарына жатқызады [1].

Жоғарыда атап өткен бифункционалды ингибитор өсімдікті микробтық және саңырауқұлақ патогендерінен қорғауға және абиотикалық стресстерге қарсы тұру кезінде қызмет атқарады [2]. Бифункционалды ингибитор ең алғаш арпа дәнінде табылған, кейін бидай, күріш сияқты дәнді дақылдарда да бар екені анықталған [3]. Қазіргі уақытта белоктық құрылымы және белсенділігінің реттелуі тереңірек зерттеліп жатыр. Бұл ингибитор тек қана қорғаныш функциясын емес, сонымен қоса өсіп келе жатқан бидай дәніндегі α -амилазаның артық белсенділігін төмендеті алады. Соның арқасында ұнның сапасын арттыруға мүмкіндік бар [4].

Зерттеу әдістері мен нысандары

Зерттеу нысандары. Зерттеу нысандары ретінде тыныштық күйдегі тұтас бидай дәндері, әртүрлі бидай сорттарының (*Triticum aestivum* L.) эндоспермдері мен өскіндері пайдаланылды.

α -амилазаны бөліп алу және тазалау. Тыныштық күйдегі бидай дәндері Петри табақшаларына отырғызылды. Күн сайын суару және зақымдану белгілері байқалған бидай дәндерін алып тастау жұмыстары жүргізілді. 4-күні өсіп шыққан өскіндер бөлек алынып тасталып, бидай дәндері гомогенизацияланды. Кейіннен үстіне 1:3 қатынасында құрамында 5 mM CaCl_2 бар 0,05 M натрий-ацетат буфері қосылды. 1 сағат тоңазытқышта суытылғаннан кейін, 15 минут бойы 3000 айн/мин центрифугаланды.

Ингибиторды бөліп алу және тазалау. Әр сорттан алынған 5 г. құрғақ бидай дәндері 1-2 минут көлемінде зертханалық диірменмен ұнтақталды. Кейін ступка көмегімен гомогенизацияланды. 5 г. ұнға 20 мл pH=5.0-ге тең 1 mM натрий-ацетат буфері қосылды. Дайын үлгі тұндыру мақсатында 2 сағатқа тоңазытқышқа қойылды. Кейін үлгі центрифугадан өткізілді.

Тазалығын сақтау мақсатында үлгілер Pd бағаналардан өткізілді. Қолданылған – құрамында 1 mM CaCl_2 бар 0,05 M Tris буфері.

α -амилазаның белсенділігін анықтау. α -амилазаның белсенділігі йод-крахмал әдісі арқылы анықталды. Субстрат ретінде крахмал қолданылды.

Крахмалға дистилденген су қосылып 30°C-қа дейін қыздырылып, әр сынауыққа 1мл құйылды. Тәжірибе сынауықтарына әртүрлі 5, 10,15, 20,30 мкл көлеміндегі амилаза ферменті қосылды. Инкубация-бөлме температурасында 10 минут. Ары қарай 100 мкл йод ерітіндісі (0,005% J_2 / 0,05% KJ) қосылды. Спектрофотометрде 320 нм ұзындықта өлшеу жұмыстары жасалды.

α -амилаза ингибиторының белсенділігін анықтау. 1:1 қатынасында ингибитор мен α -амилаза әрекеттестірілді. Субстрат ретінде әр үлгіге 1 мл крахмал пайдаланылды. 10 минуттық инкубациядан кейін 100 мкл йод ерітіндісі (0,005% J_2 / 0,05% KJ) қосылды. Дайын үлгілер әртүрлі уақыт (5,10,15,20 мин) аралығында 37°C-та инкубацияланды. Кейін спектрофотометрде 320 нм ұзындықта өлшеу жүргізілді.

40 бидай сорттарындағы субтилизин ингибиторының белсенділігін анықтау. Субтилизин ингибиторының белсенділігін анықтау үшін бірінші кезекте ерітінділерді дайындау жүрді (әр 10 сорт үшін). Субтилизин: 50 мкг/мл қатынасында алу үшін 0,1 г. құрғақ/таза субтилизинге 1,9 мл көлемінде дистилденген су қосылды. Субстрат ретінде гемоглобин пайдаланылды. Гемоглобин дайындау:0,025 г. құрғақ гемоглобинге 5 мл 0,05 M Tris буфері қосылды.

Үлгілерді дайындау. Бақылау ретінде ингибитор қосылмаған үлгілер пайдаланылды: 50 мкл субтилизинге 0,3 мл дист.су және 0,05 M Tris буфері қосылды. 0,5 мл гемоглобин ерітіндісін қосқаннан кейін 2 сағатқа $t=37^\circ\text{C}$ -та инкубацияланды. Кейін 1 мл 10% YXСҚ (үшхлор сірке қышқылы) қосылып, 3000 айн/мин центрифугаланды. Дайын болған соң субтилизин белсенділігі 280 нм толқын ұзындығында спектрофотометрде өлшенді.

Субтилизин ингибиторының белсенділігін анықтау: 1:4 қатынасында, яғни 50 мкл субтилизин ерітіндісіне 200 мкл ингибитор қосылып, 10 минут бойына бөлме температурасында инкубацияланды. Кейін 3 мл дист.су, 0,05 M Tris буфері және 0,5 мл гемоглобин ерітінділерін қосқаннан кейін 2 сағатқа 37°C-та инкубацияланды. Кейін 1 мл 10% YXСҚ (үшхлор сірке қышқылы) қосылып, 3000 айн/мин центрифугаланды. Дайын болған соң субтилизин белсенділігі 280 нм толқын ұзындығында спектрофотометрде өлшенді.

Нәтижелер мен оларды талқылау

α -амилазаның белсенділігін анықтау. Жұмыстың алғашқы бөлігіндегі міндет α -амилазаның белсенділігін және оған концентрация өзгеруінің және инкубацияның уақыт

өзгерісінің әсері бақыланды. Зерттеу жұмысы 4 күн бойы өсірілген тыныштық күйіндегі бидай дәндеріне жүрізілді. Фермент концентрациясы көбейген сайын, оның белсенділігі арта түсті (кесте 1).

Кесте 1 – Концентрация өзгерісінің әсерін бақылау үшін 37°С-та 5,10,15,20 мкл көлеміндегі ферменті бар үлгілерге талдау жүргізілді

Бақылау белс/бірл. мл\мг	α-амилаза 5 мкл белс/бірл. мл\мг	α-амилаза 10 мкл белс/бірл. мл\мг	α-амилаза 15 мкл белс/бірл. мл\мг	α-амилаза 20 мкл белс/бірл. мл\мг	α-амилаза 25 мкл белс/бірл. мл\мг
1,558	0,945	0,79	0,38	0,2	0,176

α-амилаза ингибиторының белсенділігін анықтау үшін α-амилаза мен ингибитор әрекеттестірілді, сонымен қоса белсенділікке инкубация уақытының да әсері бақыланды.

Кесте 2 – Инкубацияның уақыт өзгерісінің әсерін бақылау 30°-та 5,10,15,20 минут инкубацияланған үлгілерге талдау жүргізілді

Бақылау белс/бірл. мл\мг	Инкубация 5 мин белс/бірл. мл\мг	Инкубация 10 мин белс/бірл. мл\мг	Инкубация 15 мин белс/бірл. мл\мг	Инкубация 20 мин белс/бірл. мл\мг
0,042	0,103	0,733	0,966	0,993

40 бидай сорттарындағы субтилизин ингибиторының белсенділігін анықтау. 40 бидай сорттарындағы субтилизин ингибиторының белсенділігінің сортаралық айырмашылығын бақылау үшін тәжірибе жасалды. Субстрат-гемоглобин. Фермент пен ингибитор концентрациясы 1:4 қатынасындай болды. Ингибирлеу дәрежесі субтилизин белсенділігінің төмендеуінің көрінісі арқылы анықталды. Нәтиже пайыздық көрсеткішпен көрсетілді.

Кесте 3 – Ең жоғарғы белсенділікті Целинная 50 сорты көрсетсе (97%-дық ингибирлеу), ең төменгі көрсеткішті Омск 30 сорты (58%-дық ингибирлеу) көрсетті.

№	Бидай сорттары	Субтилизинді ингибирлеуі, %
1	1	3
1	Росинка 3	63
2	Целинная 21	75
3	Достык	87
4	Светланка	88
5	Акмола 2	83
6	Акмола 3	91
7	Целинная 3С	88
8	Баганская 95	90
9	Омск 35	88
10	Целинная 60	76
11	Шортандинская 2007	86
12	Карабалык 98	66
13	Омск 33	77
14	Ишимская 88	96
15	Ишимская 90	95
16	Целинная 50	97
17	Шортандинская 25	92
18	Урал-Сибирская	92
19	Астана	72
20	Целинная 90	63
21	Байтерек	61
22	Целинная-Юбилейная	62
23	Омск 30	58

24	Шортандинская-Юбилейная	80
25	Шортандинская 125	89
1	2	3
26	Шортандинская 95	87
27	Карабалык 90	81
28	Альбидум 32	85
29	Саратовская 70	88
30	Саратовская 73	73
31	Кенжегали	59
32	Солтустик	66
33	Акмола 40	74
34	Караганда 22	81
35	Асыл-сапа	86
36	Омская 36	76
37	Ишимская 98	85
38	Лют 91	77
39	Лют 268	68
40	Саратовская 29	94

Қорытынды

Тыныштық күйдегі бидай дәндеріндегі α -амилаза ингибиторының белсенділігі және оған инкубация уақытының өзгерісі және концентрация өзгерісінің әсері зерттелді. Фермент концентрациясы өскен сайын, белсенділігі арта түсті, инкубация уақытының өзгерісі де дәл солай.

40 бидай сорттарындағы субтилизин ингибиторының белсенділігінің сортаралық айырмашылығы зерттелді.

Әдебиеттер тізімі

1. Silano V. Enzymes and their Roles in Cereal Technology / Eds. J.E. Kruger, D. Lineback, C.E. Stauffer. St. Paul: American Association of Cereal Chemists. – 1987. – P. 141-199.
2. Svenson B., Fukuda K., Nielsen P., Bonsager B. / Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – V. 1696. – № 2. – P. 145-156.
3. Мосолов В.В., Валуева Т.А. / Прикл. биохимия и микробиология. – 2008. – Т. 44. – № 1. – С. 233-240.
4. Jerkovic A., Krieger A.M., Bradner J.R., Attwell B.J., Roberts T.H., Willows R.D. / Plant Physiol. – 2010. – V. 152. – № 3. – P. 1459-1470.

References

1. Silano V. Enzymes and their Roles in Cereal Technology / Eds. J.E. Kruger, D. Lineback, C.E. Stauffer. St. Paul: American Association of Cereal Chemists. – 1987. – P. 141-199 (In English).
2. Svenson B., Fukuda K., Nielsen P., Bonsager B. / Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – V. 1696. – № 2. – P. 145-156 (In English).
3. Mosolov V.V., Valueva T.A. / Adj. biochemistry and microbiology. – 2008. – T. 44. – № 1. – S. 233-240 (In Russian).
4. Jerkovic A., Krieger A.M., Bradner J.R., Attwell B.J., Roberts T.H., Willows R.D. / Plant Physiol. – 2010. – V. 152. – № 3. – P. 1459-1470 (In English).

Ж. Сергаликызы*, Н.С. Мамытова

Казахский Национальный университет имени аль-Фараби,
050040, Республика Казахстан, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 71

*e-mail: zhansayasss1@gmail.com

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРОВ АМИЛАЗЫ И СУБТИЛИЗИНА В ЗЕРНАХ ПШЕНИЦЫ

В этой статье рассматривается активность ингибитора амилазы в проростках зерен пшеницы в состоянии покоя и разница в количественном составе ингибитора субтилизина у различных сортов пшеницы. Исследовательская работа была составлена

на основе отечественных и зарубежных статей в рамках данной темы. Зерна злаков обладают способностью синтезировать и накапливать различные белковые ингибиторы протеаз и амилаз. Ингибиторы являются эффективным механизмом предотвращения повреждения растений фитопатогенами, поскольку ингибитор обладает свойством ингибировать активность гидролаз фитопатогенов. Патоген позволяет повысить устойчивость растения и свойства устойчивости за счет инактивации фермента микроорганизма. Было обнаружено, что ингибиторы в основном действуют, когда растение повреждено и может противостоять патогенам и насекомым. В настоящее время ингибиторы сериновых протеиназ считаются более изученными. Относительно мало информации об ингибиторах амилазы. И именно бифункциональный ингибитор вызвал очень большой интерес у исследователей. То есть он обладает свойством ингибировать α -амилазу и субтилизин сериновой протеазы в несвязанных ростках. Основной проблемой увеличения интереса к исследованиям ингибитора является их использование при борьбе с болезнетворными микроорганизмами и насекомыми-вредителями и получение трансгенных растений, обладающих повышенной устойчивостью к патогенам.

Ключевые слова: ингибитор, бифункциональный ингибитор, амилаза, субтилизин, патоген, пшеница.

Zh. Sergalikyzy*, N.S. Mamytova

Al-Farabi Kazakh National University, Republic of Kazakhstan, Almaty
050040, Republic of Kazakhstan, Almaty, 71 Al-Farabi Avenue

*e-mail: zhansayasss1@gmail.com

DETERMINATION OF THE ACTIVITY OF AMYLASE AND SUBTILISIN INHIBITORS IN WHEAT GRAINS

This article discusses the activity of the amylase inhibitor in the sprouts of wheat grains in the resting state and the difference in the quantitative content of the subtilisin inhibitor in different wheat varieties. The research work was developed on the basis of domestic and foreign articles on this topic. Grains of cereals have the ability to synthesize and accumulate various protein inhibitors of proteases and amylases. Inhibitors are an effective mechanism for preventing phytopathogens from harming the plant, as the inhibitor has the ability to inhibit the activity of phytopathogen hydrolases. The pathogen allows you to increase the stability and endurance properties of the plant by inactivating the enzyme of the microorganism. Inhibitors have been found to have a function mainly in the case of plant damage and to be able to resist pathogens and insects. Serine protease inhibitors are currently considered to have been studied in more depth. There is relatively little information about amylase inhibitors. And of great interest to researchers, it is he who is a bifunctional inhibitor. That is, it has the property of inhibiting α -amylase and serine protease subtilisin in unrelated sprouts. The main problem of the study of inhibitors is their use in the fight against pathogens and pest insects and obtaining transgenic plants with increased resistance to pathogens.

Key words: inhibitor, bifunctional inhibitor, amylase, subtilisin, pathogen, wheat.

Авторлар туралы мәліметтер

Ж. Серғалиқызы* – «Биотехнология» кафедрасының магистранты; әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан; e-mail: zhansayasss1@gmail.com.

Н.С. Мамытова – «Биотехнология» кафедрасының доцент м.о.; әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан; e-mail: mamytovanur@gmail.com.

Сведения об авторах

Ж. Серғалиқызы* – магистрант кафедры "Биотехнология"; Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Казахстан; e-mail: zhansayasss1@gmail.com.

Н.С. Мамытова – и.о. доцента кафедры "Биотехнология"; Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Казахстан; e-mail: mamytovanur@gmail.com.

Information about the authors

Zh. Sergalikyzy* – master's student of the Department "Biotechnology"; Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan; e-mail: zhansayass1@gmail.com.

N.S. Mamytova – associate professor of the Department "Biotechnology" M.O.; Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan; e-mail: mamytovanur@gmail.com.

DOI: 10.53360/2788-7995-2022-4(8)-5

МРНТИ: 65.09.30

Я.В. Смольникова*, А.В. Коломейцев, О.В. Стутко, Д.В. Брошко

Красноярский государственный аграрный университет
660049, Российская Федерация, г. Красноярск, проспект Мира 90

*e-mail: ya104@yandex.ru

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БЕЛКОВОГО ИЗОЛЯТА РАПСА СОРТА СИБИРСКИЙ

Аннотация: В качестве альтернативного источника растительного белка особый интерес представляют отходы переработки масличных культур семейства Brassicaceae. В статье представлены результаты исследования функционально-технологических свойств белкового изолята из рапсового жмыха сорта Сибирский. Были определены: водосвязывающая и водоудерживающая способности, жироудерживающая способность, эмульгирующая способность и стабильность эмульсии. Также было исследовано влияние pH среды на пенообразование и стабильность пены белкового изолята рапса. В результате исследования было установлено, что при гидромодуле 1:3 рапсовый изолят обладает максимальными показателями водосвязывающей и водоудерживающей способностей. При добавлении 1 см³ масла на 1 г рапсового изолята его жироудерживающая способность составила 100%, далее снижаясь по мере увеличения количества добавляемого масла. При проведении эксперимента было выявлено, что рапсовый изолят обладает высокой эмульгирующей способностью и стабильностью эмульсии. В результате проведенного исследования установлено, что снижение pH до 2 приводит к увеличению пеноемкости (на 30%) и стабильности пены (на 50 %) по сравнению с pH 10. Из полученных результатов следует, что рапсовый изолят способен повысить водосвязывающую, водоудерживающую, жироудерживающую, эмульгирующую способности мясных систем. Таким образом, установлено, что белковый изолят из рапсового жмыха сорта Сибирский может представлять интерес в качестве альтернативы соевому белку, и является перспективной технологической добавкой для применения в мясных продуктах.

Ключевые слова: рапсовый жмых, белковый изолят, функционально-технологические свойства белков

Введение

Растительная диета и, в частности, растительные белки предназначены для удовлетворения потребностей растущего населения в питании и одновременно снижения негативного воздействия производства продуктов питания на окружающую среду [1]. Включение в рецепт растительных добавок обогащает продукты белками, витаминами и минералами. Также он позволяет значительно снизить калорийность продукта. Добавление добавок в мясные изделия позволяет улучшить вкусовые качества вареных колбас, повысить их функциональные свойства, улучшить физико-химические свойства, расширить ассортимент вареных колбас [2].

Перспективным направлением развития сельского хозяйства является расширение посевных площадей под масличные культуры, а так как в современном производстве одним из главных методов производства растительного масла является способ прессования [3], образовавшийся после отделения масла жмых является перспективным сырьем для дальнейшей переработки.