

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КАЗЕИНА И ГЕМОГЛОБИНА, И ИХ ГИДРОЛИЗАТОВ НА ПЕРЕВАРИВАЕМОСТЬ ЖИРОВ

Алейник В.А., Бабич С.М., Джалалова С.О., Хамракулов Ш.Х.

Андижанский государственный медицинский институт.

### ✓ Резюме,

Изучали в сравнительном аспекте влияние казеина и гемоглобина и их гидролизатов на изменение активности панкреатической липазы и перевариваемость жиров в присутствии и отсутствии желчных кислот. Сделаны выводы, что предварительный гидролиз казеина пепсинами в желудке способствует дальнейшему улучшению гидролиза его под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока (триптической атакуемости белков). Также предварительный гидролиз снижает связывающую способность, как казеина, так и продуктов его гидролиза с желчными кислотами и улучшает гидролиз жиров под влиянием панкреатической липазы. В тоже время гидролиз гемоглобина пепсинами в желудке способствует с одной стороны снижению связывающей способности гемоглобина с желчными кислотами, а с другой увеличению связывающей способности продуктов гидролиза гемоглобина с желчными кислотами, за счет чего возможно снижение гидролиза жиров под влиянием панкреатической липазы.

Ключевые слова: панкреатическая липаза, казеин, гемоглобин, гидролизаты, желчные кислоты, гидролиз жиров.

## ЁҒЛАР ҲАЗМ БЎЛИШИГА КАЗЕИН ВА ГЕМОГЛОБИН ВА УЛАР ГИДРОЛИЗАТЛАРИНИ ТАЪСИРИНИ СОЛИШТИРМА БАҲОЛАШ

Алейник В.А., Бабич С.М., Джалалова С.О., Хамракулов Ш.Х.

Андижон давлат тиббиёт институти.

### ✓ Резюме,

Казеин ва гемоглобин, ва улар гидролизатларини панкреатик липаза ва ёғларни ўт кислоталар бор ва йўқлигида сингишини солиштирма кўринишда ўрганилди. Хулоса қилиндики, ошқозонда пепсин томонидан казеинни дастлабки гидролизи ошқозон ости беги протеолитик ферментлари (оқсилларни триптик ҳужуми) таъсирида гидролизи янада яхшиланишига олиб келади. Шу қаторда, дастлабки гидролиз, казеин ва уни ўт кислота билан гидролиз озиқларини боғлаш хусусиятларини пасайтиради, ва панкреатик липаза таъсирида ёғларни гидролизини яхшилайдди. Бир вақт ўзида гемоглобинни пепсин томонидан гидролизи гемоглобинни бир томондан ўт кислотаси билан боғлаши хусусияти пасаяди, бошқа томондан панкреатик липаза таъсирида ёғлар гидролизи пасайиши ҳисобига, гемоглобин гидролиз ҳосилаларини ўт кислоталари билан боғланиши ортиб боради.

Калит сўзлар: панкреатик липаза, казеин, гемоглобин, гидролизатлар, ёғларни ўт кислоталар, гидролизатлар ёғлар.

## COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECT OF KAZEIN AND HEMOGLOBIN AND THEIR HYDROLYZATES ON THE FUELESSABILITY OF FATS

Aleynik V.A., Babich S.M., Dzhahalova S.O., Khamrakulov Sh.H.

Andizhan State Medical Institute.

### ✓ Resume,

The effects of casein and hemoglobin and their hydrolysates on the change in pancreatic lipase activity and the digestibility of fats in the presence and absence of bile acids were studied in a comparative aspect. It was concluded that preliminary hydrolysis of casein with pepsins in the stomach contributes to further improvement of its hydrolysis under the influence of proteolytic enzymes of pancreatic juice (tryptic attack of proteins). Also, preliminary hydrolysis reduces the binding ability of both casein and its hydrolysis products with bile acids and improves the hydrolysis of fats under the influence of pancreatic lipase. At the same time, hydrolysis of hemoglobin by pepsins in the stomach, on the one hand, reduces the binding capacity of hemoglobin with bile acids, and on the other, increases the binding capacity of hemoglobin hydrolysis products with bile acids, thereby reducing the hydrolysis of fat by pancreatic lipase.

Keywords: pancreatic lipase, casein, hemoglobin, hydrolysates, bile acids, hydrolysates fats.

### Актуальность

Достаточно точную информацию о механизмах пищеварения можно получить при изучении очищенных субстратов (белков, жиров, углеводов), однако такие данные не являются прогностическими для пищеварения в сложных пищевых комплексах и могут вводить в заблуждение. Поэтому исследование

пищеварения желательно проводить с использованием смешанных субстратов [9].

Причиной этого является то, что пищевые вещества белки, жиры и углеводы могут между собой образовывать различные типы физических комплексов.

Так полисахариды за счет электростатической силы могут образовывать различные типы физических комплексов с белками в зависимости от pH, ионной силы

и распределения заряда биополимера, что может препятствовать гидролизу белков в желудке [1,8].

В тоже время многие белки являются поверхностно активными соединениями на границе вода/жир, и могут ингибировать липазу поджелудочной железы. Это ингибирование может быть результатом конкурентной адсорбции белков и десорбции белками липазы с поверхности жировых капель. Ингибирование липазы связано со способностью белков взаимодействовать с липидами и изменять качество раздела вода/жир, оно не вызвано прямым взаимодействием белка с ферментом [4,5,11,12].

Белки с большой молекулярной массой, на границе вода/жир обладают более выраженной склонностью к адсорбции, чем с меньшей молекулярной массой [10].

Белки могут адсорбировать соли желчных кислот [4,7,3]. При этом гидролизаты некоторых белков имеют более высокую способность ингибировать липазу, чем сам белок [4,6].

Эксперименты с несколькими низкомолекулярными эмульгаторами, выявили, что при концентрации эмульгатора к желчи менее 1:50, жировой липолиз происходит, как в отсутствие эмульгаторов. При промежуточных концентрациях эмульгатора к желчи между 1:50 и 1:5, степень липолиза проходит вокруг этой промежуточной концентрации эмульгатора. При более высокой концентрации эмульгатора, соотношении примерно 1:5, эмульгатора к желчи, липазная активность полностью подавляется, как в случае без желчных солей [11,12].

### Цель исследования

Изучить в сравнительном аспекте влияние казеина и гемоглобина и их гидролизатов на изменение активности панкреатической липазы и перевариваемость жиров в присутствии и отсутствии желчных кислот.

### Материал и методы

В работе были использованы желудочный и поджелудочный соки, полученные в хронических экспериментах у собак при тощакковой секреции, а также желчь, взятая у собак после проведения острых экспериментов. В поджелудочном соке определялась активность липазы [2], в присутствии различных концентраций казеина и гемоглобина, а также их гидролизатов под влиянием желудочного сока. В одних исследованиях в качестве субстрата для панкреатической липазы использовался 1% трибутирин, эмульгированный казеином или казеином в нарастающей концентрации от 0,1 до 1%. В качестве стабилизатора эмульсий использовали 2,5% раствор аравийской камеди. В других исследованиях в качестве субстрата для панкреатической липазы использовался 1% трибутирин, эмульгированный желчью разведенной 1:5 физиологическим раствором и дополнительно казеином или гемоглобином в нарастающей концентрации от 1 до 36%. С целью снижения расщепления казеина и гемоглобина, протеолитическая активность поджелудочного сока ингибировалась использованием преинкубации его с 0,1% раствором соевого ингибитора.

Исследование липолитической активности поджелудочного сока с казеином и гемоглобином проводилась в 3 вариантах: 1 - без предварительной инкуба-

ции с желудочным соком, 2 - с 30 мин предварительной инкубацией с желудочным соком, 3 - с 60 мин предварительной инкубацией с желудочным соком.

Преинкубация казеиновых и гемоглобиновых субстратов с желудочным соком осуществлялась при pH 2, после этого проводили нейтрализацию pH до 8 раствором NaOH и добавлением фосфатного буфера с pH 8,2, затем проводили исследование без добавления и с добавлением разведенной желчи и далее проводили инкубацию субстрата с поджелудочным соком. В исследованиях без преинкубации добавляли дистиллированную воду в объеме использованного желудочного сока и эквивалентном объемном количестве с потраченным раствором NaOH, а также соответствующим добавлением фосфатного буфера. В качестве контроля брались показатели липолитической активности без добавления белков.

Статистическая обработка была проведена методом вариационной статистики с вычислением средних величин и их средних ошибок, определением коэффициента достоверности разности Стьюдента-Фишера (t). Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$  и менее.

### Результат и обсуждения

Результаты исследований показали, что при применении казеина в качестве эмульгатора без желчи, липолитическая активность значительно снижается при использовании его в концентрации 0,1% и это снижение активности продолжается с увеличением концентрации казеина до 0,4%, когда полностью отсутствует липолитическая активность, ее показатель равен нулю (рис. 1А).

После предварительной 30 минутной инкубации (преинкубации) субстратов казеина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов без желчи, липолитическая активность недостоверно снижается при концентрации 0,1%, но этот показатель был достоверно выше, чем таковой без преинкубации с желудочным соком. Это снижение активности липазы продолжается с увеличением концентрации казеина до 0,5%, когда полностью отсутствует липолитическая активность. В тоже время все показатели активности липазы были достоверно выше таковых показателей без преинкубации с желудочным соком (рис. 1А).

Подобная тенденция динамики изменения активности липазы с использованием в качестве эмульгатора казеина различной концентрации без желчи отмечалась и после 60 минутной преинкубации казеина с желудочным соком. В тоже время снижение активности липазы, до полного её отсутствия проявляется при концентрации казеина 0,6%. При этом все показатели липолитической активности после 60 минутной преинкубации с желудочным соком были достоверно выше таковых показателей без преинкубации и выше таковых показателей после 30 минутной преинкубации с желудочным соком (рис. 1А).

Результаты исследований показали, что при применении казеина в качестве эмульгатора совместно с желчью, липолитическая активность с увеличением его концентрации до 12% повышалась и затем значительно снижалась при использовании концентрации

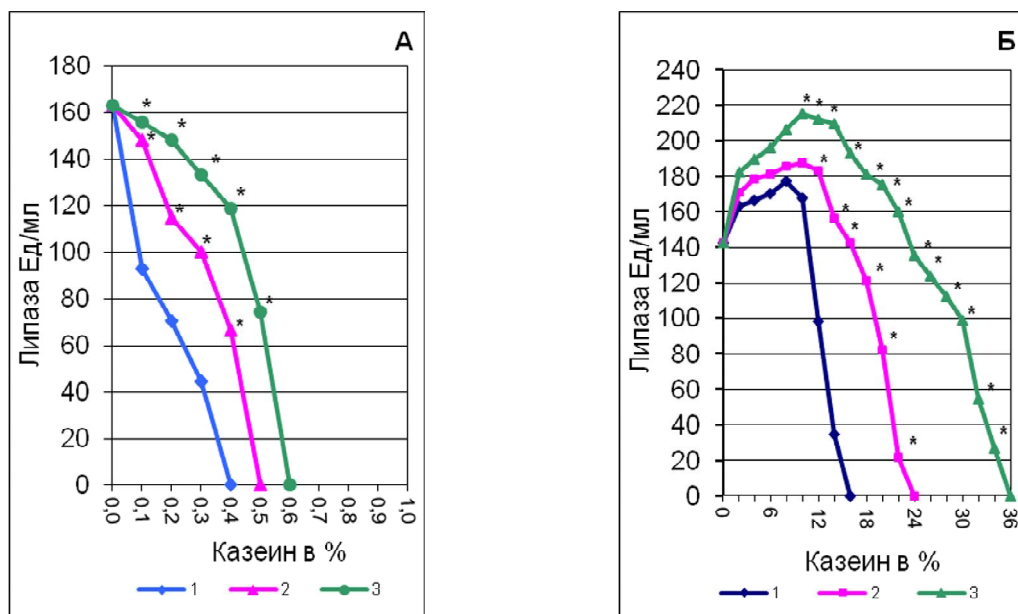


Рисунок 1. Влияние казеина различной концентрации в присутствии и отсутствии желчи на активность липазы (x103) поджелудочного сока, до и после гидролиза белков желудочным соком

Примечание: 1 - без преинкубации с желудочным соком, 2 - после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 3 - после 60 мин. преинкубации с желудочным соком.

\*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком.

до 16%, когда полностью отсутствует липолитическая активность и равна нулю (рис. 1Б).

После предварительной 30 минутной инкубации (преинкубации) субстратов казеина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов совместно с желчью. При увеличении концентрации белка липолитическая активность не достоверно увеличивалась по отношению к показателям без преинкубации и повторяла динамику этих показателей, но при концентрации свыше 12% показатели значительно снижались и при концентрации казеина в 24% липолитическая активность полностью отсутствовала. При этом все показатели липолитической активности после 30 минутной преинкубации субстратов казеина при его концентрации свыше 10% достоверно отличались от таковых без преинкубации (рис. 1Б).

Применение субстратов казеина различной концентрации после предварительной 60 минутной преинкубации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов совместно с желчью, было установлено. Что липолитическая активность при увеличении концентрации казеина выражено, но не достоверно увеличивалась по отношению к показателям без преинкубации и 30 минутной преинкубации и повторяла динамику этих показателей, но при концентрации свыше 16% показатели значительно снижались, а при концентрации казеина в 36% липолитическая активность равнялась нулю. При этом все показатели липолитической активности после 60 минутной преинкубации субстратов казеина при его концентрации свыше 10% достоверно отличались от таковых без преинкубации (рис. 1Б).

Использование гемоглобина в качестве эмульгатора без желчи, способствовало также значительному снижению липолитической активности при концентрации его 0,1% и это снижение продолжается, с

увеличением концентрации до полного отсутствия липолитической активности при 0,5% концентрации (рис. 2А).

После предварительной 30 минутной преинкубации субстратов гемоглобина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов, без желчи. Липолитическая активность постепенно снижается при увеличении концентрации гемоглобина от 0,1% до полного отсутствия её при 0,6%. Эти показатели были достоверно выше, чем таковые без преинкубации с желудочным соком (рис. 2А).

Похожая направленность изменения активности липазы с использованием в качестве эмульгатора гемоглобина различной концентрации отмечалась и после 60 минутной преинкубации с желудочным соком. В тоже время снижение активности липазы, до полного её отсутствия проявляется при концентрации гемоглобина 0,7%. При этом все показатели липолитической активности после 60 минутной преинкубации с желудочным соком были достоверно выше таковых показателей без преинкубации и выше таковых показателей после 30 минутной преинкубации с желудочным соком (рис.2А).

Исследования с применением гемоглобина совместно с желчью показали, что липолитическая активность с увеличением концентрации этого белка до 6% не значительно повышалась и затем значительно снижается, а при его концентрации в 14% липолитическая активность полностью отсутствовала и равна нулю (рис. 2 Б).

После предварительной 30 минутной преинкубации субстратов гемоглобина различной концентрации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов совместно с желчью. Липолитическая активность при увеличении концентрации белка постепенно снижалась по отноше-

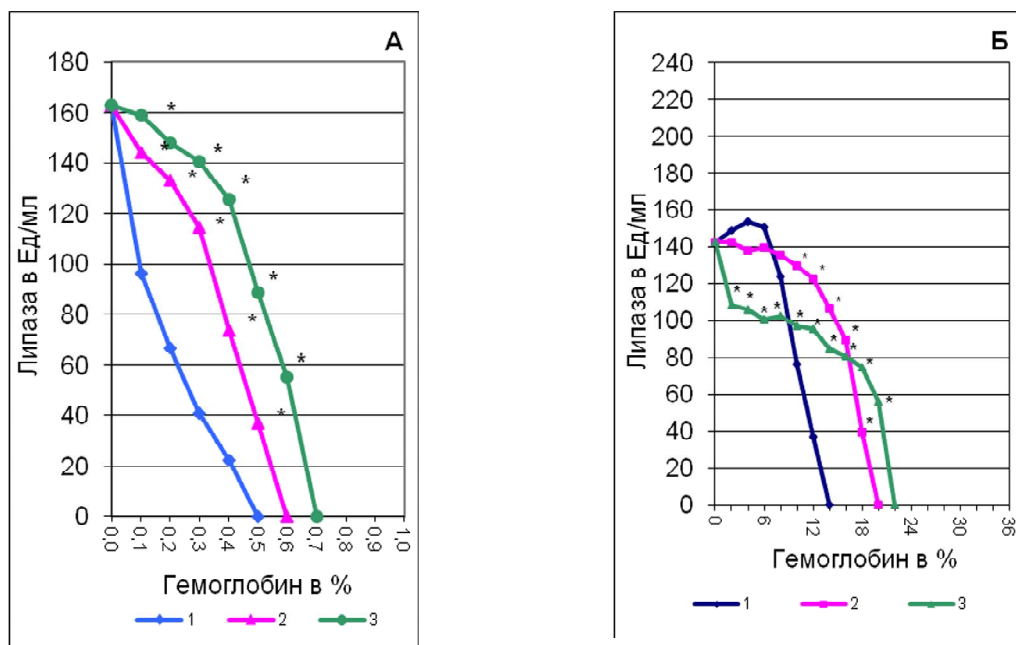


Рисунок 2. Влияние гемоглобина различной концентрации в присутствии и отсутствии желчи на активность липазы (x103) поджелудочного сока, до и после гидролиза белков желудочным соком.

Примечание: 1- без преинкубации с желудочным соком, 2- после 30 мин. преинкубации с желудочным соком, 3 - после 60 мин. преинкубации с желудочным соком.

\*- достоверно отличающиеся величины по отношению к показателям без преинкубации с желудочным соком.

нию к показателям без преинкубации и при концентрации его свыше 8% показатели значительно снижались, а при концентрации гемоглобина в 20% липолитическая активность полностью отсутствовала. При этом все показатели липолитической активности после 30 минутной преинкубации субстратов сыровороточного альбумина при его концентрации свыше 10% достоверно отличались от таковых без преинкубации (рис. 2Б).

Применение субстратов гемоглобина различной концентрации после предварительной 60 минутной преинкубации с желудочным соком и дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов совместно с желчью, было установлено. Что липолитическая активность при увеличении концентрации гемоглобина выражено и достоверно снижалась по отношению к показателям без преинкубации и 30 минутной преинкубации и при концентрации гемоглобина в 22% липолитическая активность полностью отсутствовала и равна нулю. При этом все показатели липолитической активности после 60 минутной преинкубации гемоглобина при всех концентрациях достоверно отличались от таковых без преинкубации. Также все эффекты увеличения липолитической активности с применением сыровороточного альбумина в качестве эмульгатора совместно с желчью при 30 и 60 минутной преинкубации были менее выражены по сравнению с применением в качестве эмульгатора как казеина, так и сыровороточного альбумина совместно с желчью (рис. 2 Б).

### Обсуждение результатов

Полученные данные показывают, что как казеин, так и гемоглобин в отсутствии желчных кислот

обладают ингибирующим действием на липазу в составе панкреатического сока в более низких концентрациях. В тоже время при использовании их в качестве эмульгатора, совместно с желчью, казеин и гемоглобин ингибировали липазу при значительно более высоких концентрациях. При увеличении концентрации казеин сначала вызывал повышение активности панкреатической липазы, возможно за счет увеличения эмульгируемости смешанного субстрата, используемого для определения панкреатической липазы. Затем при достижении концентрации казеина до определенного уровня, отмечалось значительное снижение активности липазы, которое доходило до нуля.

Липолитическая активность панкреатического сока, при отсутствии желчных кислот достоверно повышалась после 30 минутной, и еще в большей мере после 60 минутной преинкубации с желудочным соком, как казеина, так и гемоглобина, и в дальнейшем использовании их в качестве эмульгаторов. Что указывает на снижение ингибирования казеином и гемоглобином связанного с уменьшением их количества за счет гидролиза в процессе преинкубации и отсутствие ингибирующего влияния на липолитическую активность панкреатического сока продуктами гидролиза казеина и гемоглобина.

В тоже время липолитическая активность панкреатического сока, в присутствии желчных кислот и использовании в качестве эмульгатора казеина, по сравнению с таковыми показателями без преинкубации, достоверно повышалась. Что указывает на снижение ингибирования казеином связанного с уменьшением его количества за счет гидролиза при преинкубации и отсутствие ингибирующего влияния на липолитическую активность панкреатического сока продуктами

гидролиза казеина. Однако при использовании в качестве эмульгатора гемоглобина, липолитическая активность панкреатического сока, в присутствии желчных кислот на начальных этапах увеличения концентрации гемоглобина после 30 и еще больше после 60 минутной преинкубации понижалась, по сравнению с таковыми показателями без преинкубации. Что указывает на увеличение ингибирования гемоглобином, за счет влияния на липолитическую активность панкреатического сока продуктов гидролиза гемоглобина, в результате связывания их с желчными кислотами.

### Выводы

Таким образом, можно заключить, что предварительный гидролиз казеина пепсинами в желудке способствует не только дальнейшему улучшению гидролиза его под влиянием протеолитических ферментов поджелудочного сока (триптической атакуемости белков), но также снижению связывающей способности как казеина, так и продуктов его гидролиза с желчными кислотами и улучшению гидролиза жиров под влиянием панкреатической липазы. В тоже время гидролиз гемоглобина пепсинами в желудке способствует с одной стороны снижению связывающей способности гемоглобина с желчными кислотами, а с другой увеличению связывающей способности продуктов гидролиза гемоглобина с желчными кислотами, за счет чего возможно снижение гидролиза жиров под влиянием панкреатической липазы.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Антипова А.С. Термодинамические аспекты влияния низкомолекулярных углеводов и полисахаридов на функциональные свойства белков. - М.: 2008. /Автореферат дис. канд. хим. наук. - С. 258
2. Курзанов А.Н. Метод определения липолитической активности биологических жидкостей //Лаб.дело.- 1975.-№12.- С. 746-747.
3. Delorme V. et al. Effects of surfactants on lipase structure, activity, and inhibition //Pharmaceutical research. - 2011. - Vol. 28. - №. 8. - pp. 1831-1842.
4. Gargouri Y, Julien R, Pieroni G, Verger R, Sarda L. Studies on the inhibition of pancreatic and microbial lipases by soybean proteins. //J Lipid Res.-1984.- Vol.25.- №.11.- pp.1214-21.
5. Gargouri Y, Pi?roni G, Rivi?re C, Sarda L, Verger R. Inhibition of lipases by proteins: a binding study using dicaprin monolayers. //Biochemistry. - 1986, - Vol. 25. - №.7- pp. 1733-8.
6. Hosomi, R., Fukunaga, K., Nishiyama, T., & Yoshida, M. Effects of porcine hemoglobin on serum lipid content and fecal lipid excretion in rats //Journal of medicinal food. - 2014. - Vol. 17. - №. 3. - pp. 302-309.
7. Hur S. J., Decker E. A., McClements D. J. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during in vitro digestion //Food Chemistry.- 2009.- Vol. 114. - №. 1. - pp. 253-262.
8. Koutina G. et al. The effect of protein-to-alginate ratio on in vitro gastric digestion of nanoparticulated whey protein //International dairy journal. - 2018. - Vol. 77. - pp. 10-18.
9. Smith, F., Pan, X., Bellido, V., Toole, G. A., Gates, F. K., Wickham, M. S., ... & Mills, E. C. Digestibility of gluten proteins is reduced by baking and enhanced by starch digestion //Molecular nutrition & food research. - 2015. - Vol. 59. - №. 10. - pp. 2034-2043.
10. Speranza A., Corradini M.G., Hartman T. G., Ribnicky D., Oren A., Rogers M.A. Influence of emulsifier structure on lipid bioaccessibility in oil-water nanoemulsions // J. Agric. Food Chem., 2013, Vol. 61, No. 26, pp. 6505-6515.
11. Vinarov, Z., Petrova, L., Tcholakova, S., Denkov, N. D., Stoyanov, S.D., & Lips, A. In vitro study of triglyceride lipolysis and phase distribution of the reaction products and cholesterol: effects of calcium and bicarbonate //Food & function. - 2012. - Vol. 3. - №. 11. - pp. 1206-1220.
12. Vinarov, Z., Tcholakova, S., Damyanova, B., Atanasov, Y., Denkov, N. D., Stoyanov, S. D., ... & Lips, A. Effects of emulsifier charge and concentration on pancreatic lipolysis: 2. Interplay of emulsifiers and bile //Langmuir. - 2012. - Vol. 28. - №. 33. - pp. 12140-12150.

Поступила 10.03. 2019