

Формулы Фармации. 2023. Т. 5, № 4. С. 46–51

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ: ДИСКУССИОННАЯ ТРИБУНА

Краткое сообщение

УДК 638.162.1

DOI: <https://doi.org/10.17816/phf624477>

Влияние кратковременного нагревания на активность амилолитических ферментов в меде

© 2023. В. В. Соловьева¹, В. А. Тихомиров¹, К. А. Филатова¹, С. Г. Парамонов¹

¹Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Вячеслав Александрович Тихомиров, vyacheslav.tihomirov@spcru.ru

АННОТАЦИЯ. В исследовании представлены результаты анализа активности амилолитических ферментов в меде в зависимости от кратковременного нагревания, имитирующего процесс добавления меда в горячий чай. Также проведено сравнение этой активности с аналогичными ферментами, присутствующими в лекарственном препарате «Фестал». Установлены закономерности изменения активности амилолитических ферментов, что способствует разработке рекомендаций по употреблению меда с учетом данного показателя. Полученные результаты показывают значительно более низкую активность амилолитических ферментов в меде по сравнению с лекарственным препаратом. Однако с учетом различий в потреблении, возможно их оценка как сопоставимых. Также выявлено, что активность амилолитических ферментов в меде изменяется при кратковременном нагревании, не снижаясь до температуры 30 °С. По анализу активности *in vitro*, исследуемый образец соответствует лекарственному препарату «Фестал» и позволяет выдвигать перспективы для дальнейшего изучения влияния амилолитических ферментов меда на организм человека, требующего более точных методов изучения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: амилолитические ферменты; мед; ферментативная активность; диастазное число; «Фестал»; полисахариды; *in vitro*

ВВЕДЕНИЕ

Процесс расщепления крахмала – распространённый в природе процесс, служащий для разложения полисахаридов. Содержащиеся в растениях полисахариды в виде крахмала под действием амилолитических ферментов животных расщепляются на более простые для последующего использования в физиологических процессах. Амилаза преимущественно присутствует в человеческом организме в слюнных и поджелудочной железе в составе пищеварительных ферментов и также в других тканях.. В меде амилолитические ферменты присутствуют как растительного происхождения, так и произведенные организмом пчелы (*Apis mellifera*) и служат для расщепления запасных углеводов растений (производных крахмала – декстринов) до более простых соединений (сахарозы), которые в свою очередь расщепляются до глюкозы и фруктозы сахаразой.

В товароведческой экспертизе меда активность амилолитических ферментов является одним из нормируемых показателей натурального меда [1], обозначается диастазным числом и измеряется в единицах Готе. Одной единице соответствует объем 1 см³ 1%-ного раствора крахмала, который разлагается за 1 час амилолитическими ферментами, присутствующими в 1 г безводного меда при температуре 40 °С. Недостаточное нормируемому показателю значение диастазного числа свидетельствует о фальсификации продукта или о термической обработке для придания более привлекательного внешнего вида (распускание закристаллизовавшегося меда). С другой стороны, некоторые исследователи считают, что и значительное превышение нормируемых показателей, например 50 ед. Готе, может свидетельствовать о фальсификации через искусственное добавление ферментов в продукт [2].

Диастазное число натурального меда зависит от ряда факторов: вида нектароносных растений [3, 4], региона происхождения [5, 6], породы (географической расы) пчел и силы пчелиной семьи. И колеблется в широких пределах: от 1,1 до 44,4 ед. Готе [3]. Также на активность амилолитических ферментов влияет температура хранения меда [7, 8]. Скорость снижения активности увеличивается с увеличением температуры.

Таким образом, с одной стороны в меде содержится некоторое количество группы полезных ферментов. Тем не менее, широкий диапазон значений активности амилолитических ферментов в меде, определяемый условиями сбора нектара и хранения продукта, делает невозможным выработку общих рекомендаций по использованию меда.

При этом амилолитические ферменты входят в число прочих ферментов в состав ряда лекарственных препаратов. Это торговые наименования: Фестал (содержит эквивалент амилазы 4500 FIP ЕД.), Микразим (эквивалент амилазы FIP 7500 ЕД.), Панкреатин (амилолитическая активность – не менее 2800 FIP ЕД.).

Цель исследования заключается в изучении влияния кратковременного воздействия высоких температур на активность ферментов перед непосредственным употреблением меда, например, при добавлении его в чай. Также проводится сравнительный анализ результатов определения диастазного числа в меде с использованием упрощенного метода и амилолитической активности

ферментов, содержащихся в лекарственном препарате «Фестал», определенной тем же методом, что служит опорной точкой для последующих исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследований использовался натуральный цветочный мед, в котором содержится в основном пыльца подсолнечника (30%). Он был полностью кристаллизованным и без признаков брожения. В процессе была определена массовая доля воды – 15,5%. Документально указано, что мед представляет собой продукцию Краснодарского края. В работе использовался метод, утвержденный в Правилах ветеринарно-санитарной экспертизы для продажи меда на рынках [9], для изучения амилолитических ферментов. Пробу 10% раствора меда подвергали нагреванию в течении 10 минут на водяной бане, с целью имитации процесса добавления меда в горячую воду (или чай) перед его употреблением. Был использован следующий ряд температур: 30 °С, 40 °С, 50 °С, 60 °С, 70 °С, 80 °С.

Для сопоставления с активностью амилолитических ферментов было изучено действие лекарственного препарата «Фестал», который был представлен в виде суспензии в соотношении 0,2 г на 1000 мл воды.

Для сопоставления с активностью амилолитических ферментов было изучено действие лекарственного препарата «Фестал», который был представлен в виде суспензии в соотношении 0,2 г на 1000 мл воды. В данной работе для обозначения активности амилолитических ферментов и их способности расщеплять крахмал использовались единицы Готе. При этом 1 ед. соответствует количеству фермента, разлагающему 1 см³ 1%-ного раствора крахмала за 1 час, содержащемуся в 1 г безводного меда при температуре 40 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты определения амилолитических ферментов с различной температурой кратковременного нагрева, а также сравнительная определенная тем же методом активность ферментов в лекарственном препарате «Фестал» приведены в таблице 1.

Первый вариант исследования представлял собой контроль и отражал начальное значение активности амилолитических ферментов исследуемого образца меда без нагревания. Мед хранился при комнатной температуре. Варианты с 2 по 7 включительно предполагали нагрев 10% раствор меда до соответствующей температуры на водяной бане в течении 10 минут, имитируя добавление меда в чай, на разных этапах заваривания.

Последний, восьмой вариант, был предназначен для сравнения – с использованием того же метода определения активности амилолитических ферментов лекарственного препарата «Фестал» разведенном в пропорции 1 : 5000 (0,2 гр таблетки в 1000 мл воды).

Мед с начальной активностью амилолитических ферментов 17,9 ед. Готе (Рис. 1) практически не меняет свою активность при кратковременном нагреве 30 °С, и снижает активность, до 5 ед. при нагреве в течение 10 мин. до температуры 80 °С.

Активность амилолитических ферментов в 1 г безводного образца исследуемого меда, как при начальных условиях, так и при кратковременном нагревании до

Результаты определения активности амилолитических ферментов при воздействии различных температур

Табл. 1.

Table 1.

Results of determining the activity of amylolytic enzymes under the influence of various temperatures		
№ варианта исследования	Температура	Советующее число единиц Готе
Определение амилолитической активности 10% раствора меда.		
1	Комнатная, 20°	17,9
Нагревание образца меда в течении 10 минут с последующим измерением показателя		
2	30°	17,9
3	40°	13,9
4	50°	10,0
5	60°	8,0
6	70°	7,0
7	80°	5,0
Сравнительные данные ЛП активность препарата «Фестал» разведение 1 : 5000		
8	Комнатная, 20°	17,9

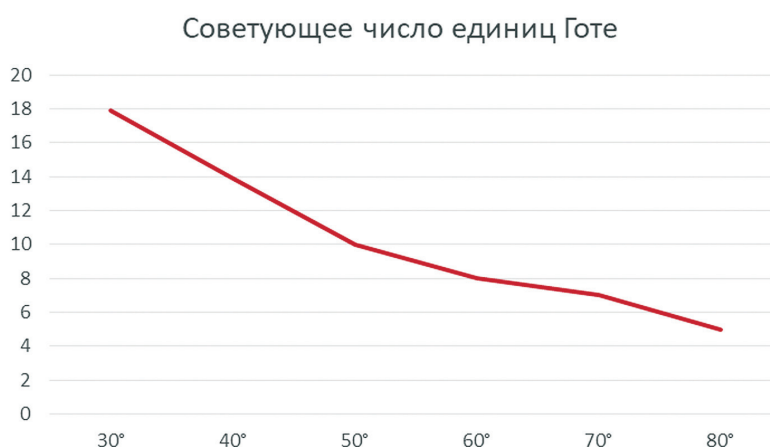


Рис. 1. Зависимость активности ферментов от температуры кратковременного нагрева меда

Fig. 1. Dependence of enzyme activity on the temperature of short-term heating of honey

температуры 30 °С, примерно соответствует активности *in vitro* ферментов, присутствующих в 0,2 г (1 таблетке) лекарственного препарата, разбавленного в 100 мл воды (по наполнению половины стакана воды). Эти результаты могут послужить отправной точкой для изучения влияния ферментов меда на организм. Необходимо отметить, что результаты исследования следует рассматривать как предварительные, поскольку используемый нами метод является упрощенным и имеет методическую погрешность $\pm 3,9$ ед. Готе. Выбор метода становится определяющим, поскольку другие используемые методы измерения диастазного числа, регламентированные ГОСТ 34232-2017 [10], показывают значительные расхождения в результатах (в 1,5–2 раза).

ВЫВОДЫ

Активность амилолитических ферментов в меде изменяется при кратковременном (10-минутном) нагреве. До температуры 30° С активность амилолитических ферментов в меде не снижается. По активности амилолитических ферментов *in vitro* исследуемый образец соответствует лекарственному препарату с содержанием действующего вещества эквивалентного 4500 FIP ЕД, растворенного в 500 раз. Что соответствует 1 таблетке лекарственного препарата «Фестал» запитой 100мл воды. Исследования амилолитической активности меда в разрезе влияния на организм человека перспективны и требуют дальнейшего изучения более точными методами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Межгосударственный стандарт ГОСТ 19792-2017 «Мед натуральный. Технические условия» (введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 ноября 2017 г. № 1715-ст) / [Электронный ресурс] // ГАРАНТ: [сайт]. –

URL: <https://base.garant.ru/72124706/> (дата обращения: 01.11.2023).

2. Зубова Е. Н. О диастазном числе меда / Е. Н. Зубова, Г. И. Леготкина // Пчеловодство. – 2012. – № 7. – С. 48–49.

3. Русакова Т. М. О диастазном числе мёдов // Пчеловодство, 1984, № 10, с. 22–23
4. Русакова Т. М. Научное обоснование влияния температурного воздействия и ботанического происхождения на ферментативную активность мёда / Т. М. Русакова, О. В. Серебрякова, С. Н. Есенкина // Современные проблемы пчеловодства и апитерапии: Материалы Международной научно-практической конференции, Рыбное, 18 декабря 2020 года / Под редакцией А. З. Брандорф [и др.]. – Рыбное: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пчеловодства», 2021. – С. 441–449. – DOI: 10.51759/pchel_api_2021_438
5. Попкова М. А. Биологически активные вещества мёда натурального / М. А. Попкова, Н. В. Будникова, Г. К. Степанцева // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2021. – Т. 10, № 1. – С. 280–283. – DOI: 10.48612/n1zh-6azn-h1zh.
6. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия. Учебник. Под ред. акад. АМН СССР Дебова С. С. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1990. – 528 с.
7. Хорн Х., Люльманн К. Все о мёде: производство, получение, экологическая чистота и сбыт: [перевод с немецкого] / Хельмут Хорн, Корд Люльманн. – Москва; Владимир: АСТ Астрель ВКТ, 2011. – 316 с.
8. White J. W., Subers M. H., Kushnir I. Effect of storage and processing temperatures on honey quality. *Fd. Technol.* 18 (4), 1964, с. 153–156
9. Правила ветеринарно-санитарной экспертизы мёда при продаже на рынках (утв. Главным государственным ветеринарным инспектором Российской Федерации 18 июля 1995 г. № 13-7-2/365) (документ не действует) / [Электронный ресурс] // ГАРАНТ: [сайт]. – URL: <https://base.garant.ru/2108674/> (дата обращения: 27.12.2023).
10. Межгосударственный стандарт ГОСТ 34232-2017 «Мед. Методы определения активности сахаразы, диастазного числа, нерастворимых веществ» (введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 ноября 2017 г. № 1716-ст) / [Электронный ресурс] // ГАРАНТ: [сайт]. – URL: <https://base.garant.ru/72143882/> (дата обращения: 11.11.2023).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Варвара Витальевна Соловьева – студент 3 курса фармацевтического факультета Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, solovyova.varvara@spcru.ru

Вячеслав Александрович Тихомиров – студент 3 курса фармацевтического факультета Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, vyacheslav.tihomirov@spcru.ru

Ксения Андреевна Филатова – студент 3 курса фармацевтического факультета Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, kseniya.filatova@spcru.ru

Сергей Геннадьевич Парамонов – канд. биол. наук, доцент кафедры промышленной экологии Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, sergei.paramonov@pharminnotech.com

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 12.12.2023 г., одобрена после рецензирования 19.12.2023 г., принята к публикации 30.12.2023 г.

The influence of short-term heating on the activity of amylolytic enzymes in honey

© 2023. Varvara V. Solovyova¹, Vyacheslav A. Tikhomirov¹,
Ksenia A. Filatova¹, Sergey G. Paramonov¹

¹Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Vyacheslav A. Tikhomirov, vyacheslav.tikhomirov@spcpcu.ru

ABSTRACT. This study presents the results of the analysis of the activity of amylolytic enzymes in honey, depending on short-term heating, simulating the process of adding honey to hot tea. Additionally, a comparison of this activity with similar enzymes present in the pharmaceutical preparation “Festal” was conducted. Regularities in the change of amylolytic enzyme activity were established, contributing to the development of recommendations for honey consumption considering this parameter. The obtained results demonstrate significantly lower activity of amylolytic enzymes in honey compared to the pharmaceutical preparation. However, considering differences in consumption, it is possible to assess them as comparable. It was also revealed that the activity of amylolytic enzymes in honey changes during short-term heating, not decreasing until the temperature reaches 30°C. Based on the *in vitro* activity analysis, the tested sample corresponds to the pharmaceutical preparation “Festal,” allowing for prospects for further research into the impact of honey’s amylolytic enzymes on the human body, requiring more precise methods of study.

KEYWORDS: amylolytic enzymes; honey; enzymatic activity; diastase number; “Festal”; polysaccharides; *in vitro*

REFERENCES

1. Mezhhgosudarstvennyi standart GOST 19792-2017 “Med natural’nyi. Tekhnicheskie usloviya” (vveden v deistvie prikazom Federal’nogo agentstva po tekhnicheskemu regulirovaniyu i metrologii ot 9 noyabrya 2017 g. N 1715-st) / [Elektronnyi resurs] // GARANT : [sait]. — URL: <https://base.garant.ru/72124706/>. (In Russ).
2. Zubova E. N. About the diastase number of honey / E. N. Zubova, G. I. Legotkina // Beekeeping. – 2012. – No. 7. – P. 48–49. (In Russ).
3. Rusakova T. M. O diastaznom chisle medov // Pchelovodstvo, 1984, № 10, s. 22–23. (In Russ).
4. Rusakova, T. M. Scientific substantiation of the influence of temperature exposure and botanical origin on the enzymatic activity of honey / T. M. Rusakova, O. V. Serebryakova, S. N. Yesenkina // Modern problems of beekeeping and apitherapy: Materials of the International Scientific and Practical Conference, Rybnoye, December 18, 2020 / Edited by A.Z. Brandorf [and others]. – Rybnoye: Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Scientific Center for Beekeeping”, 2021. – P. 441–449. – DOI: 10.51759/pchel_api_2021_438. (In Russ).
5. Popkova M. A. Biologically active substances of natural honey / M. A. Popkova, N. V. Budnikova, G. K. Stepantseva // Collection of scientific papers of the Krasnodar Scientific Center for Animal Science and Veterinary Medicine. – 2021. – T. 10, No. 1. – P. 280–283. – DOI: 10.48612/n1zh-6a3n-h1zh. (In Russ).
6. Berezov T. T., Korovkin B. F. Biologicheskaya khimiya. Uchebnik. Pod red. akad. AMN SSSR Debova S. S. – 2-e izd., pererab. i dop. – M.: Meditsina, 1990. – 528 s. (In Russ).
7. Khorn Kh., Lyull’mann K. Vse o mede : proizvodstvo, poluchenie, ekologicheskaya chistota i sbyt : [perevod s nemetskogo] / Khel’mut Khorn, Kord Lyull’mann. - Moskva; Vladimir : AST Astrel’ VKT, 2011. – 316 s. (In Russ).
8. White J. W., Subers M. H., Kushnir I. Effect of storage and processing temperatures on honey quality. *Fd. Technol.* 18 (4), 1964, c. 153–156
9. Pravila veterinarno-sanitarnoi ekspertizy meda pri prodazhe na rynkakh (utv. Glavnym gosudarstvennym veterinarnym inspektorom Rossiiskoi Federatsii 18 iyulya

1995 g. No. 13-7-2/365) (dokument ne deistvuet) / [Elektronnyi resurs] // GARANT : [sait]. – URL: <https://base.garant.ru/2108674/>. (In Russ).

10. Mezhgosudarstvennyi standart GOST 34232-2017 “Med. Metody opredeleniya aktivnosti sakharazy, dia-

staznogo chisla, nerastvorimyykh veshchestv” (vveden v deistvie prikazom Federal’nogo agentstva po tekhnicheskomu regulirovaniyu i metrologii ot 9 noyabrya 2017 g. No. 1716-st) / [Elektronnyi resurs] // GARANT : [sait]. – URL: <https://base.garant.ru/72143882/>. (In Russ).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Varvara V. Solovyova – 3rd year student of the Faculty of Pharmacy, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, solovyova.varvara@spcpu.ru

Vyacheslav A. Tikhomirov – 3rd year student of the Faculty of Pharmacy, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, vyacheslav.tikhomirov@spcpu.ru

Ksenia A. Filatova – 3rd year student of the Faculty of Pharmacy, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, kseniya.filatova@spcpu.ru

Sergey G. Paramonov – Ph.D. in Biological Sciences, Associate Professor at the Industrial Ecology Department, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, sergei.paramonov@pharminnotech.com

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted December 12, 2023; approved after reviewing December 19, 2023; accepted for publication December 30, 2023.