

Пептид-полисахаридные комплексы слизи ламинарии, корня алтея, семян льна

Д-р хим. наук **А.П. Нечипоренко**¹, allanech2512@yandex.ru,
канд. техн. наук **И.Э. Миневиц**², У.Ю. Нечипоренко³,
канд. хим. наук **В.Е. Ситникова**¹, Д.А. Громова¹

¹Университет ИТМО
197101, Россия, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

²Федеральный научный центр лубяных культур
170041, Россия, Тверь, Комсомольский пр., 17/56

³МК «Народная медицина»
196236, Россия, Санкт-Петербург, ул. Бельи Куна, 32

Методом инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения исследовали пептид-полисахаридные комплексы, полученные водной экстракцией слизи в течение 120 мин при 40–45°C с последующим осаждением трехкратным избытком этанола, изопропиловым спиртом варьруемой концентрации (23–67%) и трихлоруксусной кислотой (5%) из сухих измельченных образцов слоевищ ламинарии, корня алтея и цельных семян разных сортов льна отечественной селекции. Независимо от вида сырьевого материала, характера продуцируемой растением слизи (межклеточной, внутриклеточной, мембранной), природы осадителя и фракционирования (корень алтея) при осаждении пула протеин-полисахаридных комплексов, в спектрах всех образцов полисахаридных экстрактов и очищенных полисахаридных комплексов в области проявления протеиновых компонентов (1750–1500 см⁻¹) наблюдалась одиночная структурированная полоса в области 1600 см⁻¹, характеризующая пептидную структуру протеиновой компоненты в составе полисахаридной матрицы. Положение максимума полосы около 1600 см⁻¹ и ее форму определяет в большей степени видовое, а не сортовое различие исследуемого сырья, связанное с длиной полипептидных цепочек. Устойчивость пептид-полисахаридных конструкций при варьировании условий их выделения и температуры сушки говорит о перспективности их использования по целевому назначению в зависимости от длины пептидных цепочек и их аминокислотного состава в пищевых технологиях, медицине, косметологии, фармакологии.

Ключевые слова: инфракрасная спектроскопия; растительные слизи; пептид-полисахаридные комплексы.

DOI: 10.17586/2310-1164-2020-10-1-3-17

Peptide-polysaccharide complexes of kelp slime, marshmallow root, flax seed

D. Sc. **Alla P. Nechiporenko**¹, allanech2512@yandex.ru,

Ph. D. **Irina E. Minevich**², **Ul'yana Yu. Nechiporenko**³, Ph. D. **Vera E. Sitnikova**¹, **D.A. Gromova**¹

¹ITMO University
49, Kronverksky ave., St. Petersburg, 197101, Russia

²Federal Scientific Center of Bast Crops
Komsomolsky ave., 17/56, Tver, 170041, Russia

³MC "Folk medicine"
32, Bely Kuna str., St. Petersburg, 196236, Russia

Infrared spectroscopy of frustrated total internal reflection (IR spectroscopy of FTIR) was used to study the peptide-polysaccharide complexes obtained by water extraction of mucus for 120 min at 40–45°C, followed by precipitation with three times excess of ethanol, isopropyl alcohol of varying concentrations (23–67%), and trichloroacetic acid (3%) from dry powdered samples of thalli of kelp, marshmallow root, and whole seed of different flax varieties of national selection. Regardless of the type of raw materials, the nature of the mucus produced by the plant (intercellular, intracellular, and membrane), the nature of the precipitator and fractionation (marshmallow root) during the deposition of protein-polysaccharide complexes, a single structured band was observed in the area of protein components (1750–1500 cm⁻¹) in the spectra of all samples of polysaccharide extracts and purified polysaccharide complexes, characterizing the peptide structure of the protein component as a part of a polysaccharide matrix. The position of the strip maximum at about 1600 cm⁻¹ and its shape determines rather the species than the varietal difference of the studied raw materials, associated with the length of the polypeptide chains. The stability of peptide-polysaccharide structures under varying conditions of their isolation and drying temperature indicates the prospects of their use for the purpose depending on the length of the peptide chains and their amino acid composition in food technologies, medicine, cosmetology, and pharmacology.

Keywords: IR spectroscopy; plant mucus; peptide-polysaccharide complexes.

Введение

Пептиды – группа соединений, состоящая из двух или более (до 100) аминокислотных остатков, связанных пептидной связью, в избытке присутствующих во всех живых организмах, растительных и животных. Первенство в открытии пептидов принадлежит немецкому ученому, лауреату Нобелевской премии по химии 1902 года Герману Эмилю Фишеру (1852–1919 гг.), экспериментально доказавшему, что белки состоят из аминокислотных остатков. В 1905 году он получил пептиды лабораторным путем. Однако технологическая сложность выделения чистых белков затрудняла их изучение и пептиды на долгие годы оставались для ученых объектом лишь теоретического изучения. Сегодня известно около 7000 пептидов, выделенных из животных, растений и микроорганизмов. Их свойства уникальны.

Все пептиды имеют узкую рабочую специализацию, и для каждого органа и ткани имеются свои личные пептиды (пептиды мозга, сердца, печени, щитовидной железы, мышечной ткани и др.) [1, 2]. При этом пептиды определенной специализации имеют одинаковое строение у разных видов млекопитающих. Это открытие сделало возможным создание отечественными учеными (Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии [3, 4] под руководством В.Х. Хавинсона, автора теории пептидной регуляции клеточных систем и функций организма) нового класса геропротекторных препаратов, лекарственных средств на основе экстракции пептидов из органов и тканей молодых животных (телята до 12-месячного возраста) – пептидные многофункциональные биорегуляторы (пептиды Хавинсона), контролирующие правильность работы клеток, помогая им восстанавливаться и обновляться, фактически омолаживать организм на клеточном уровне [5–9]. Однако любой орган или ткань представлены не одним типом клеток. Так, например, в печени кроме гепатоцитов – клеток самой печени, находятся нервные клетки, сосуды, лимфоидная и соединительная ткань. А это значит, что для восстановления печени необходим комплекс пептидов для всех перечисленных тканей. Таким образом, любой пептидный биорегулятор содержит набор необходимых для данного органа специфических регуляторов генома клеток, который попадая в клетки, возвращает отдельно взятым клеткам и органу в целом утраченные функции.

По сути, при синтезе новых белковых молекул вся генетическая информация организма, записанная в ДНК, «считывается» при помощи пептидов и доносится ими до клеток соответствующих органов и тканей, запуская нужные внутриклеточные реакции саморегуляции [10, 11]. Более чем за четыре десятилетия работы ученым удалось выделить пептиды из всех видов тканей: костной, хрящевой, мышечной, сосудистой и др. Однако выделение пептидного комплекса для определенного органа является сложнейшей технической задачей. Современные фармацевты научились синтезировать пептиды в лабораторных условиях, которые добавляют в кремы, БАДы, сыворотки, их принимают в виде таблеток и инъекций [12, 13]. Прием пептидов официально разрешен спортсменам для восстановления при перегрузках [14].

Чрезвычайно богатым источником пептидов с огромным потенциалом для их разработки в качестве лекарственных и профилактических средств, в том числе противоопухолевых, являются растения, например, семейства фиалковых, мареновых, тыквенных и др., а также морские растения [15–17]. Изучение природных растительных пептидов началось не более 10 лет назад и сегодня является одним из наиболее активных направлений. Безопасность, хорошая переносимость, эффективность и фармакологическая привлекательность делают растительные пептиды оптимальной основой для разработки новых терапевтических средств с менее сложной технологией производства по сравнению с биофармацевтическими препаратами на основе белков. Научно доказано, что пептиды, обильно содержащиеся в растениях, полностью идентичны их животным аналогам, не имеют противопоказаний и побочных эффектов.

Исходя из химической структуры, пептиды подразделяют на линейные и циклические. Исследования показали, что большинство пептидов, выделенных из растений, являются циклопептидами [18]. По сравнению с линейными они проявляют более мощную биологическую активность, возможно, благодаря стабильной конфигурации, которую обеспечивает им циклическая структура.

Слово «пептид» имеет греческое происхождение и в переводе означает «питательный». Целый набор различных пептидов содержат практически все продукты питания животного (мясо, рыба, птица, яйца, молоко и пр.) и растительного (ячмень, кукуруза, соя, гречка, пшеница, рис, редис, шпинат,

семечки подсолнечника и многое другое) происхождения, которые при информированном и грамотном подходе могут служить как профилактическим, так и лечебным средством пищевой диеты при заболеваниях разной этиологии [19, 20]. Согласно литературным данным, особенно богаты пептидами молоко, зерновые, бобовые, соя.

В рамках затронутой темы интересны растительные полисахаридные слизи, в которых полисахариды – многочисленная и широко распространенная группа сложных углеводов, которые наряду с белками и жирами необходимы для жизнедеятельности всех живых организмов, растительных и животных, представляют собой сложные смеси кислых и нейтральных гетерополисахаридов [21], образующихся в растениях в результате обмена веществ. Основу нейтральных слизей составляют продукты полимеризации моносахаридов – D-галактозы, D-маннозы, L-арабинозы, D-глюкозы и их производных. В состав кислых полисахаридов помимо нейтральных моносахаридов входят уроновые кислоты и/или их кальциевые, калиевые и магниевые соли. Уроновые кислоты – сахара, у которых первичная спиртовая группа окислена до карбоксила. Образование слизей в разных количествах происходит в различных органах растений: почки, кора, цветки, листья, стебли, плоды, семена, корни, корневища, луковичи, клубни. Они содержатся в наружных слоях клеток водорослей, семян подорожника, айвы, липы, льна, горчицы, а также во внутренних клеточных слоях подземных органов – корнях алтея, ятрышника, мать-и-мачехи.

В последние два–три десятилетия интерес к растительным полисахаридам слизей резко возрос в связи с тем, что эти соединения, ранее считавшиеся инертными, обладают не только широким спектром фармакологической активности, но и массой преимуществ по сравнению с синтетическими медицинскими препаратами, основным из которых является отсутствие побочных эффектов и комплексное политерапевтическое воздействие на организм. Сегодня лекарственные растения и фитоэкстракты, содержащие полисахариды слизи, широко используются в пищевой промышленности, в качестве лекарственных и профилактических средств в народной и официальной медицине, фитотерапии, при производстве препаратов косметического назначения. Однако, несмотря на широкие перспективы использования растительных полисахаридов слизи как многофункционального ингредиента в качестве промышленного продукта во многих жизненно важных сферах, их промышленного производства в нашей стране нет. Это связано с недостаточностью и глубиной научных исследований по получению и изучению полисахаридов, особенностей их компонентного и фракционного состава, функционально-технологических и медико-биологических свойств. Кроме того, производство синтетических полисахаридов усложняется их структурным многообразием и недостаточно высокой воспроизводимостью свойств.

Полисахариды слизей обычно рассматриваются как источник растворимых пищевых волокон типа гидроколлоидов [22] – незаменимого пищевого ингредиента. В пищевых технологиях растительные полисахариды слизей используются в качестве структурообразователя, водосвязывающего и жирудерживающего агента, загустителя, стабилизатора и пр. Полисахариды слизи растительного сырья способствуют снижению содержания холестерина в крови, показано их положительное влияние при профилактике диабета и снижении риска коронарной недостаточности [23–25], что позволяет рассматривать их и как биологически ценный ингредиент.

Однако функциональные свойства водорастворимых полисахаридов слизей являются результатом синергетического эффекта, проявляемого в комплексе с пептидами, неизбежно присутствующими в составе полисахаридной матрицы, которая, являясь проводником-транспортёром, стабилизирующим их свойства. Качественный и количественный состав пептидов в полисахаридных комплексах определяется видом растения, его анатомической частью, зависит от сортовых особенностей и климатических условий произрастания растения, а также от технологической схемы экстракции слизей и выделения пептид-полисахаридных комплексов из экстрактов [26–28].

По характеру образования слизей растительное сырьё подразделяется на сырьё с интерцеллюлярной (межклеточной) слизью (льняное семя); внутриклеточной слизью (корень и листья алтея) и сырьё, содержащее мембранную слизь (ламинария и другие водоросли). Слизь растворяется в воде, образуя характерные вязкие коллоидные системы, лечебная ценность которых зависит от их физико-химических свойств и состава, определяющих по существу фармакологическое действие этих лекарственных средств. Из сырья, содержащего слизи готовят различные лекарственные формы:

настои, отвары, экстракты, настойки, сборы. Приготовление их осуществляется по индивидуальным технологическим схемам для каждого типа сырья. Обычно слизи из растительного сырья экстрагируют водой, водными растворами солей или 25–30% водно-спиртовой смесью, а затем протеин-полисахаридный комплекс выделяют осаждением этанолом, изопропиловым спиртом, ацетоном.

Цель данной работы – сравнительное исследование оптических свойств методом инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (ИКС НПВО) природных пептид-полисахаридных комплексов цельных семян льна, измельченных корня алтея и слоевища ламинарии, представляющих все три типа слизей – интерцеллюлярной, внутриклеточной и мембранной.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлись сухие измельченные образцы слоевищ ламинарии, корня алтея промышленного производства, цельные семена масличного льна промышленного (ГОСТ 10582-76) сортов Дипломат, Ленок, Северный и масличного льна, выращенного в Канаде¹. Исследовались водные экстракты полисахаридных слизей образцов (ПС экстракты) и выделенные из них осаждением 3-кратным избытком 96% этанола, изопропилового спирта (23–67%) и 5% трихлоруксусной кислотой (ТХУК) очищенные полисахаридные комплексы (ПС комплексы). Экстракцию во всех случаях проводили при 40–45°C в течение 120 мин (гидромодуль – 1/20), при постоянном перемешивании. После охлаждения и отделения от шрота фильтрованием экстракт разделяли на две части. Первая – ПС экстракт. Из второй части экстракта осаждали ПС комплексы, отделяли их от надосадочной жидкости центрифугированием. ПС экстракты и ПС комплексы сушили на предметном столике ИК спектрометра при 20°C, контролируя окончание процесса сушки по стабилизации спектра, и при 50°C в термостате до постоянной массы, а затем измельчали [27].

Колебательные спектры образцов (32 скана) получали методом ИК спектроскопии НПВО (нарушенного полного внутреннего отражения) на Фурье-спектрометре Tensor 37 фирмы Bruker (Германия) с алмазным НПВО элементом, управляемым программным пакетом OPUS со стандартными градуировочными возможностями, в диапазоне частот 4000–600 см⁻¹ в формате поглощения.

Результаты и их обсуждение

В отличие от листовой ламинарии и корневого алтея, нативные полисахариды слизей семян льна обычно выделяют водной экстракцией из целых, не измельченных плодов. Это связано с тем, что семена льна содержат значительное количество водорастворимых белков (альбумины, глобулины, глютелины), которые могут экстрагироваться из ядра измельченных семян вместе с полисахаридами. Тем не менее, процесс выхода полисахаридов в раствор неизбежно сопровождается параллельной экстракцией водорастворимых протеиновых фракций, находящихся и в оболочке семян льна. Кроме того, известно, что основная масса белков и жира находится в ядре семян льна.

Рисунок 1 позволяет сопоставить ИК спектры образцов ПС комплексов, полученных водной экстракцией из измельченных и цельных семян льна промышленного. Обращает на себя внимание не только то, что спектр ПС комплекса, полученного из измельченных семян, расположен заметно выше, но и то, что он существенно отличается от спектра ПС комплекса, полученного из цельных семян, по форме всех основных полос. Следует обратить внимание на различия в областях проявления протеиновых структур (1750–1500 см⁻¹) и СН_n-группировок (3010–2820 см⁻¹). В спектре ПС комплекса, полученного из измельченных семян, протеины представлены двумя полосами – Амид-I (1680 см⁻¹) и Амид-II (1540 см⁻¹), типичными для белковых структур как растительного, так и животного происхождения. На наличие NH-группировок пептидных связей в структуре его белков указывает и узкий максимум 3240 см⁻¹. Кроме того, в областях 3008 и 722 см⁻¹ в спектре данного образца присутствуют полосы, характеризующие валентные и деформационные колебания СН-групп при двойной связи (СН=СН). Это говорит о том, что в белок-полисахаридных комплексах, полученных из измельченных семян, содержится значительное количество ненасыщенных липидных компонентов. Подтверждением является и наличие узкой полосы 1743 см⁻¹, где регистрируются С=О-группировки жирных карбоновых кислот липидов. В спектре ПС комплекса, выделенного из цельных семян, наблюдается одна

¹ Все образцы семян льна и продукты их переработки предоставлены И.Э. Миневич, ФГБНУ ФНЦ ЛК, г. Тверь

структурированная полоса с максимумом при 1600 см⁻¹, что предполагает наличие в его составе полипептидных структур, и практически отсутствуют полосы, принадлежащие липидным компонентам.

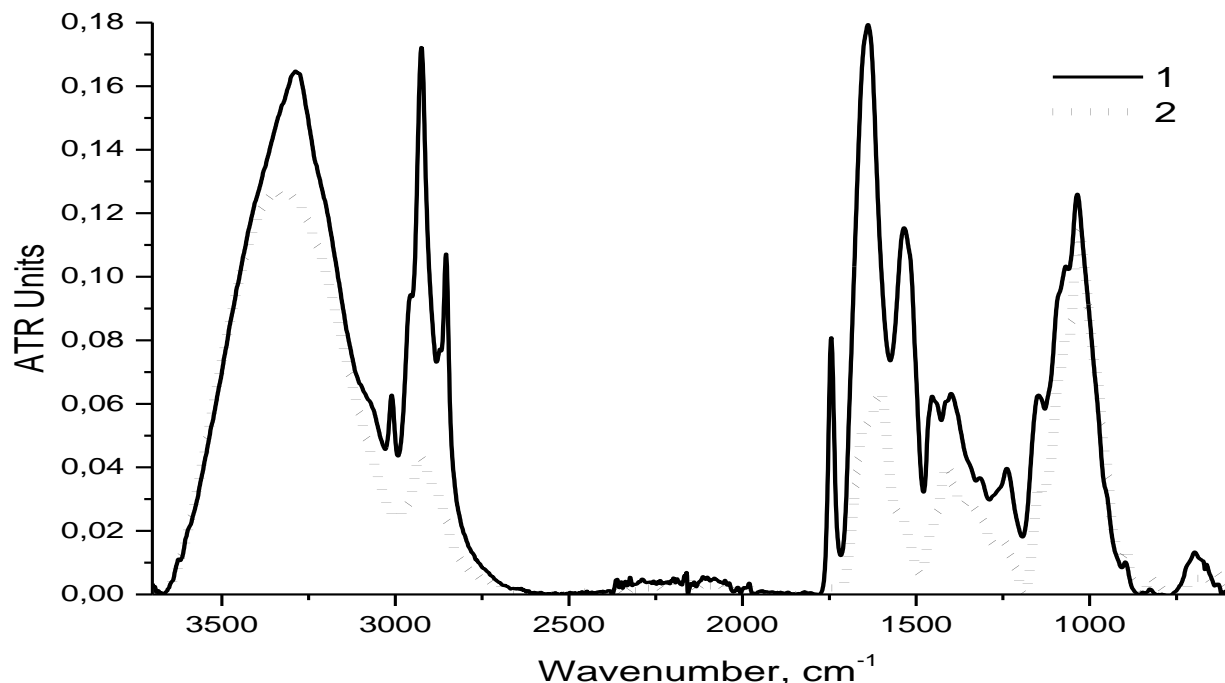


Рисунок 1. ИК спектры сухих образцов ПС комплексов, полученных из:
1 – измельченных; 2 – цельных семян промышленного льна, высушенных при 50°C

Figure 1. IR spectra of dry samples of PS complexes obtained from:
1 – crushed flax seeds; 2 – whole industrial flax seeds, dried at 50°C

Результаты исследования методом ИКС НПВО полисахаридных продуктов, полученных водной экстракцией из цельных семян рассматриваемых сортов льна и высушенных при 50°C, представлены на рисунке 2. Использование расширенного сортового ассортимента семян льна показало, что по общему характеру кривые светопоглощения образцов в основном отличаются только интенсивностью полос, что указывает на идентичность их качественного состава. В спектрах всех образцов в области 3000–3500 см⁻¹ присутствует широкая интенсивная полоса, ответственная за проявление валентных (симметричных и асимметричных) колебаний NH- и OH-группировок [29] всех компонентов полисахаридных систем, содержащих эти функциональные группы. Широкая интенсивная структурированная полисахаридная полоса в области 1000–1100 см⁻¹ с максимумом при 1031 см⁻¹, где регистрируются валентные колебания C-O и C-O-C-связей углеводов всех типов, как растительного, так и животного происхождения, в спектрах всех образцов тоже, в общем имеет близкий рисунок, в основном различаясь по интенсивности и наличию плечей разной степени выраженности.

Во всех случаях в области 1540–1680 см⁻¹ наблюдается одна уширенная структурированная полоса. На правой и левой ее ветвях также наблюдаются плечи разной степени выраженности и интенсивности. Экспериментальный факт позволяет предположить, что в водных экстрактах слизевых продуктов оболочки цельных семян льна преобладают полипептидные компоненты, спектральный образ которых отличается от спектрального проявления белковых структур, имеющих в данной области две дифференцированные полосы Амид-I и Амид-II.

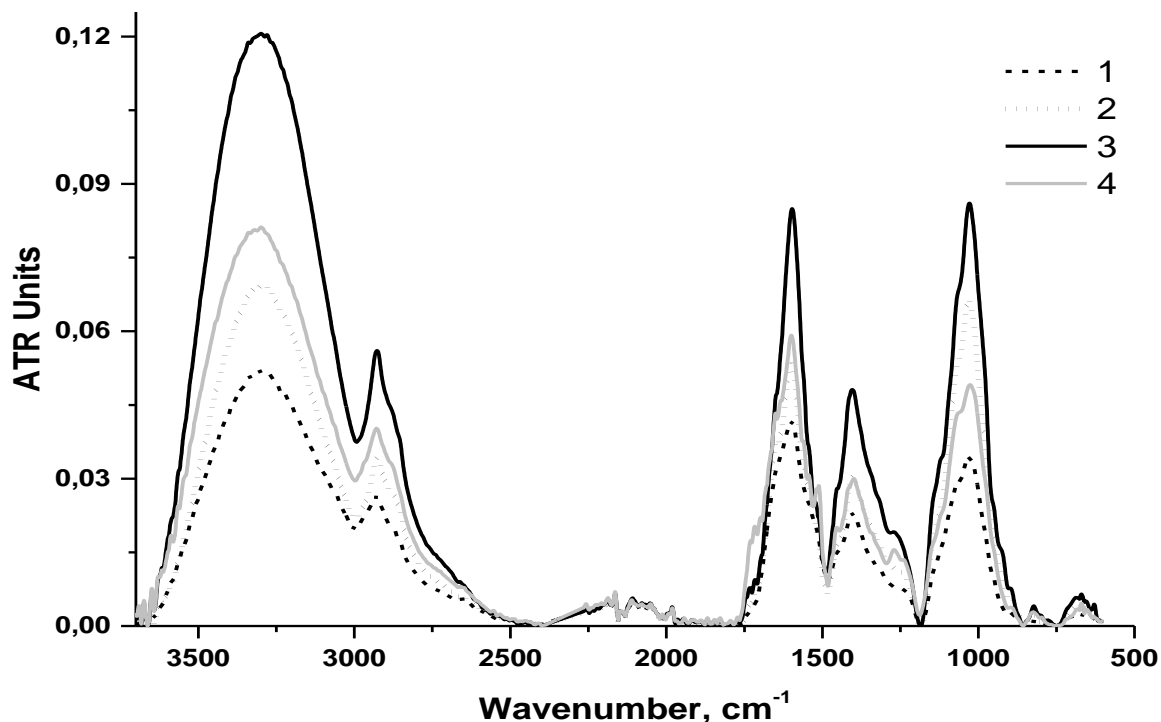


Рисунок 2. ИК спектры сухих ПС экстрактов семян льна разных сортов:
 1 – масличные (Канада); 2 – Дипломат; 3 – Северный; 4 – Ленок
 Figure 2. IR spectra of dry PS extracts of flax seeds of different varieties:
 1 – oilseeds (Canada); 2 – Diplomat; 3 – North; 4 – Lenok

Причем, последовательность расположения спектральных кривых в ее составе (рисунок 3а) для ПС экстрактов отвечает их расположению в высокочастотной полосе 3500–3000 см⁻¹. Максимально высоко во всем исследуемом диапазоне частот лежит спектр экстракта из семян льна Северного, самое низкое положение – у масличных семян Канады.

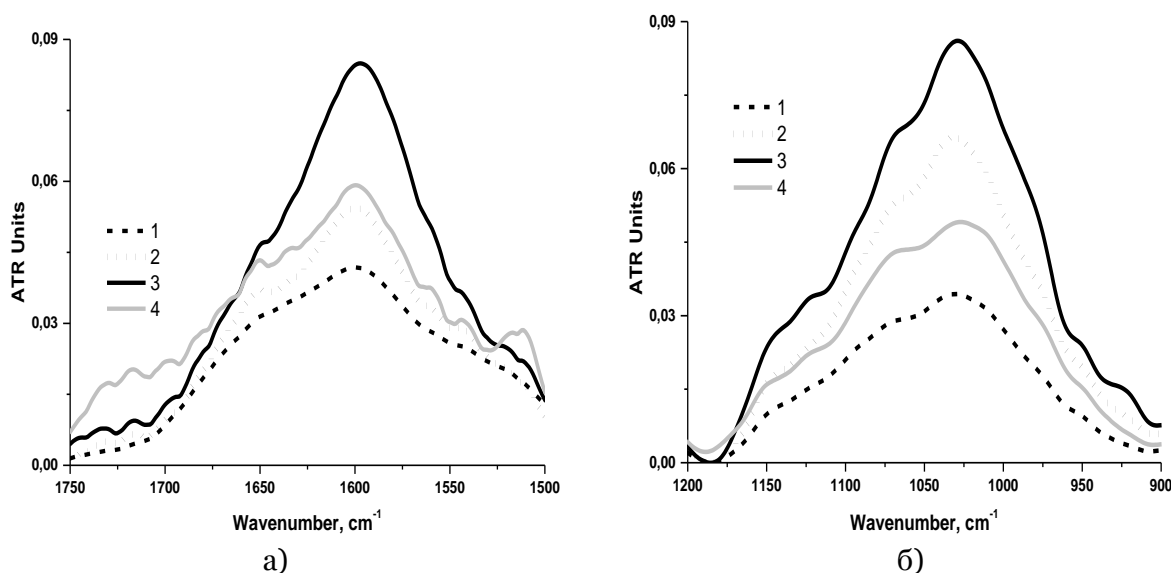


Рисунок 3. Фрагменты ИК спектров ПС экстрактов семян льна:
 а) 1759–1500 см⁻¹; б) 1200–900 см⁻¹; 1 – масличные (Канада); 2 – Дипломат; 3 – Северный; 4 – Ленок
 Figure 3. Fragments of IR spectra of PS-extracts of flax seeds:
 а) 1759–1500 cm⁻¹; б) 1200–900 cm⁻¹; 1 – oilseeds (Canada); 2 – Diplomat; 3 – North; 4 – Lenok

Однако в составе полисахаридной полосы (рисунок 3б) относительное расположение спектров ПС экстрактов из семян Дипломат и Ленок меняется, что может указывать не только на разное соотношение протеин-полисахаридных компонентов в экстрагируемых комплексах, но и на большее разнообразие протеиновых фрагментов в ПС экстракте из семян сорта Ленок, судя по фактуре его протеиновой полосы.

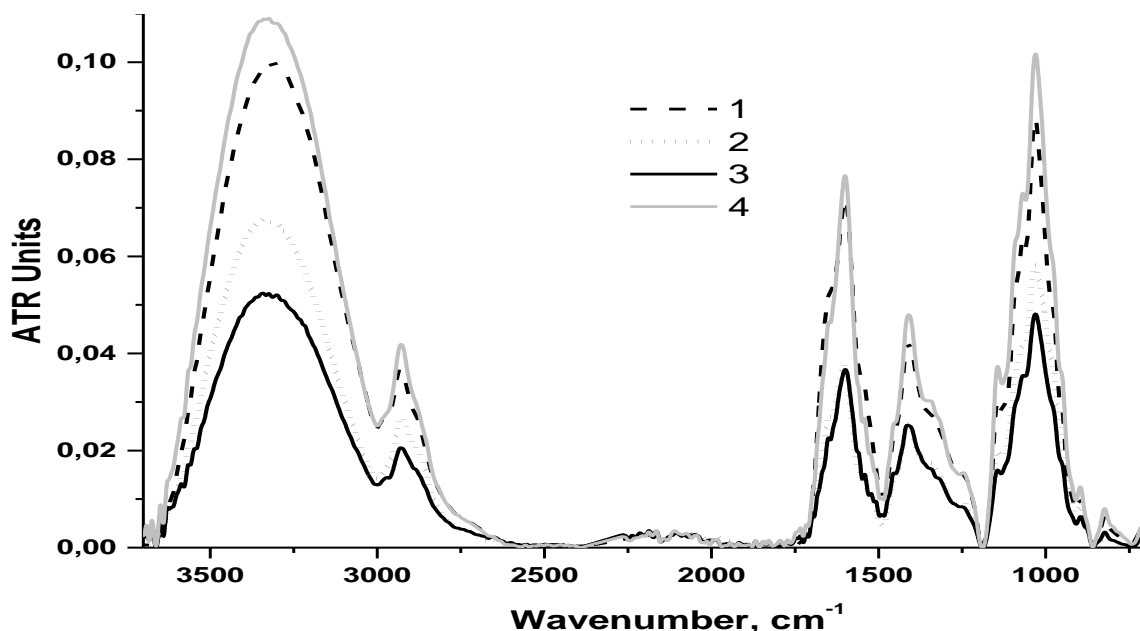


Рисунок 4. ИК спектры сухих ПС комплексов семян льна разных сортов:
 1 – масличные (Канада); 2 – Дипломат; 3 – Северный; 4 – Ленок
 Figure 4. IR spectra of dry PS complexes of flax seeds of different varieties;
 1 – oilseeds (Canada); 2 – Diplomat; 3 – North; 4 – Lenok

Исследование спектров ПС комплексов (рисунок 4) данного сырьевого ассортимента семян льна показало, что именно спектр продукта из семян Ленок доминирует во всем частотном диапазоне. Последовательность расположения кривых в составе всех полос остается постоянной, но по сравнению со спектрами ПС экстрактов меняется существенно. Самое низкое расположение в данном случае имеет спектр ПС комплекса из семян Северный, что более наглядно представлено фрагментами основных полос на рисунке 5. Согласно фрагменту «а», по содержанию протеиновых компонентов в осажденных этанолом ПС комплексах, их можно разделить на две подгруппы: Ленок, масличные семена Канада и Дипломат, Северный. Следует отметить в этом случае множественную структуризацию обеих ветвей протеиновой полосы в спектре семян Северный.

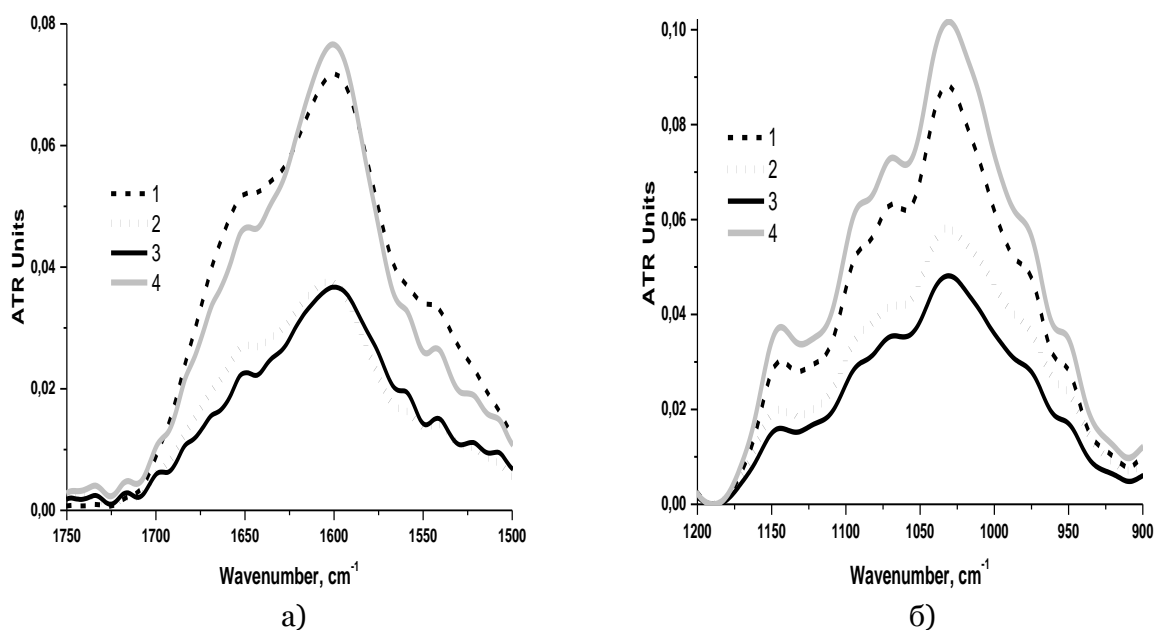


Рисунок 5. Фрагменты ИК спектров ПС комплексов семян льна:
 а) 1750–1500 см⁻¹; б) 1200–900 см⁻¹; 1 – масличные, Канада, 2 – Дипломат, 3 – Северный, 4 – Ленок
 Figure 5. Fragments of IR spectra of PS complexes of flax seeds:
 а) 1750–1500 cm⁻¹; б) 1200–900 cm⁻¹; 1 – oilseeds (Canada); 2 – Diplomat; 3 – North; 4 – Lenok

Наблюдаемое изменение порядка расположения спектральных кривых и их фактуры в спектрах ПС комплексов после их выделения из водных экстрактов может говорить о том, что этанолом

осаждаются не все протеин-полисахаридные компоненты, часть их остается в надосадочном растворе. Это может быть обусловлено как различием в растворимости протеиновых компонентов разной структуры, прочностью их связи с полисахаридной матрицей, так и концентрацией осадителя, что наглядно показано в работе [31]. Особенно, если учесть, что этанолом проводят осаждение как протеинов, так и полисахаридов, а в данном случае они представляют собой пул комплексных протеин-полисахаридных структур разного состава, строения, прочности и растворимости.

Результаты исследования влияния природы осадителя и его концентрации представляет рисунок 6, на котором приведены ИК спектры сухих (50°C) ПС комплексов, полученных водной экстракцией цельных семян льна промышленного и осаждением при варьируемой концентрации изопропилового спирта (23, 42, 67%). Как следует из представленных данных, замена этанола на изопропиловый спирт не оказывает заметного влияния на общий характер спектра и форму основных полос. Однако с повышением концентрации осадителя возрастает доля выделенных протеин-полисахаридных продуктов (1770–1500 и 1200–900 см⁻¹), на что адекватно указывает и увеличение интенсивности высокочастотной полосы (3750–3000 см⁻¹).

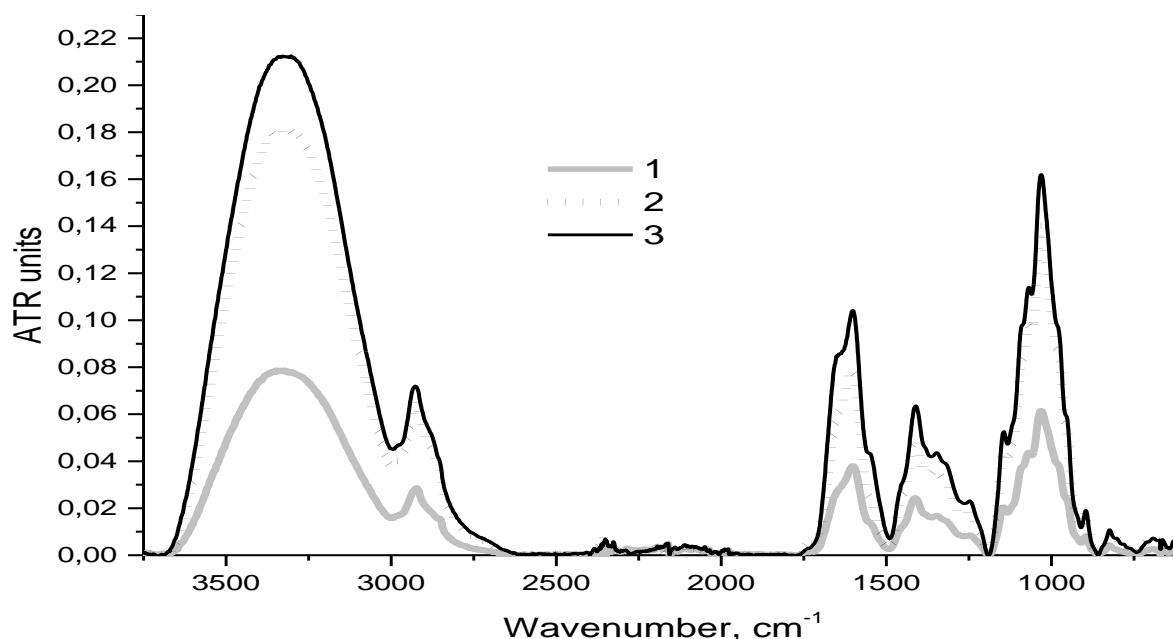


Рисунок 6. ИК спектры ПС комплексов семян льна промышленного:
1 – 23; 2 – 42; 3 – 67% изопропилового спирта

Figure 6. IR spectra of PS complexes of industrial flax seeds: 1 – 23; 2 – 42; 3 – 67% isopropyl alcohol

И вместе с этим, при неизменном положении максимума и увеличении интенсивности основной протеиновой полосы (1580 см⁻¹), меняется ее структура (рисунок 7а) – более четко прорисовываются фрагменты в области 1660 и 1540 см⁻¹, где обычно у белковых структур проявляются полосы Амид-I и Амид-II. Это говорит о различии соотношения разных по структурно-химическому строению и растворимости протеиновых компонентов в составе полисахаридных комплексов в зависимости от доли спирта-осадителя в системе. Рисунок 7б позволяет сопоставить влияние природы двух осадителей при близких концентрациях – этанола (70%) и изопропилового спирта (67 %) на ИК спектр протеиновых структур в составе ПС комплексов, высушенных при 50°C. При близкой фактуре рассматриваемых полос и положения их максимумов, плечи в области 1660 и 1540 см⁻¹ в спектре ПС комплекса, полученного осаждением изопропиловым спиртом, более выражены, а сам спектр расположен заметно выше, что подтверждают и данные, представленные в работе [31].

При осаждении спиртами или ацетоном, являющимися водоотнимающими средствами, обычно совместно с белками осаждаются и пептиды. Известно [32], что трихлоруксусная кислота (ТХУК) является специфическим реагентом на белок. Она способна осаждать только белки и не осаждает продукты их распада, в связи с чем ТХУК пользуется при биохимических исследованиях, например, для очистки белков крови от высокомолекулярных пептидов. В данном эксперименте ТХУК (5%) была использована в качестве осадителя при выделении протеиновых фракций из водного экстракта параллельно с этанолом.

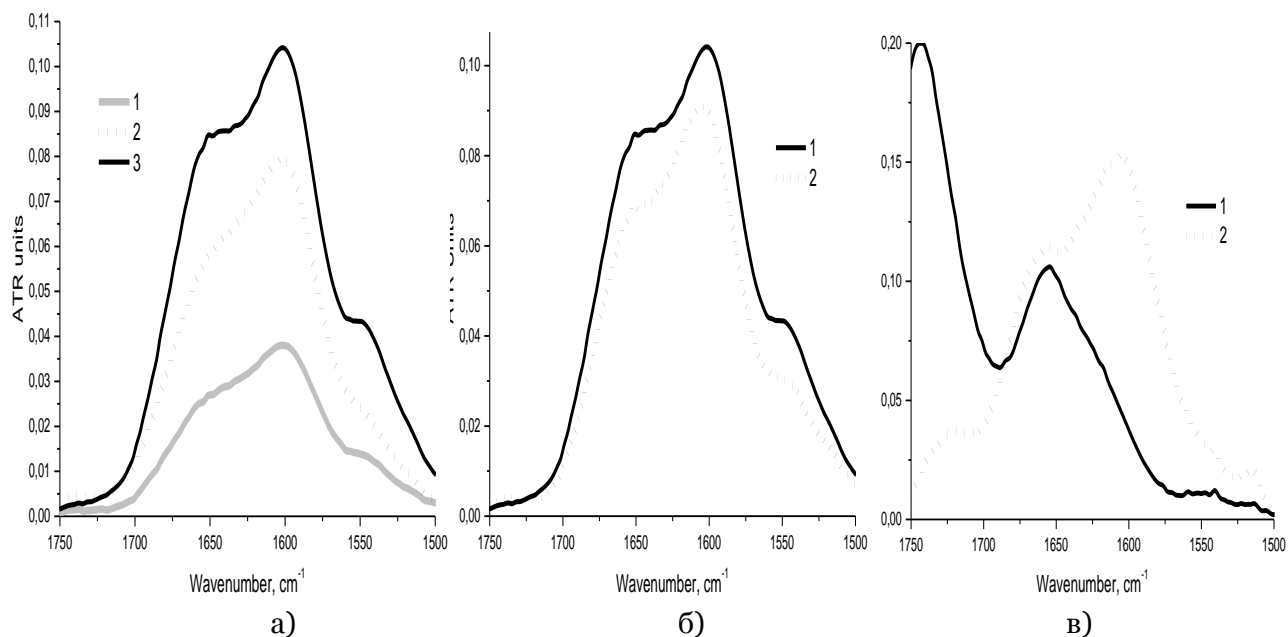


Рисунок 7. Фрагменты ИК спектров (1750–1500 см⁻¹) ПС комплексов семян льна промышленного: а) 1 – 23; 2 – 42; 3 – 67 % изопропилового спирта; б) осадитель: 1 – изопропиловый спирт, 2 – этанол; в) надосадочные растворы: 1 – ТХУК, 2 – этанол

Figure 7. Fragments of IR spectra (1750–1500 cm⁻¹) of PS complexes of industrial flax seeds: а) 1 – 23; 2 – 42; 3 – 67 % isopropyl alcohol; б) precipitator: 1 – isopropyl alcohol, 2 – ethanol; в) supernatant. solutions: 1 – THUK, 2 – ethanol

В отличие от этанола, при действии на ПС экстракт ТХУК осадка не наблюдалось, что является доказательством отсутствия белков в водном экстракте цельных семян льна. Однако исследование надосадочного раствора после осаждения ПС комплекса этанолом и раствора экстракта, содержащего ТХУК (рисунок 7в), высушенных при 20°C, показало, что этанол при данной концентрации не полностью осаждаёт пептиды, которые различаются длиной цепочки (кр. 2). В ИК спектре экстракта, содержащего ТХУК, в результате сушки при 20°C отмечено наличие пептидов, но поскольку осаждение ТХУК и этанолом проводилось из одного и того же раствора ПС экстракта, различие в спектрах может говорить о том, что ТХУК, не осаждавая пептиды разрушает имеющиеся более длинные цепочки, о чем свидетельствует положение максимума в спектре образца. Интенсивный максимум в области 1748 см⁻¹ принадлежит С=О-группам ТХУК.

Чтобы исключить влияние температурного фактора, проведено исследование водных экстрактов из измельченных образцов ламинарии и корня алтея в сопоставлении с экстрактом из цельных семян льна промышленного, высушенных при 20°C на предметном столике прибора до постоянства их ИК спектров (рисунок 8), которые закономерно изменялись в процессе сушки по мере удаления воды. Известно [28, 30], что для получения максимального выхода продукта, каждый вид и сорт сырьевого материала требует индивидуальной технологической схемы процесса, в которой важны такие параметры, как температура и время экстракции, гидромодуль, дисперсность образца, концентрация и природа осадителя, условия сушки и другие. С целью возможности сравнительного исследования, процессы водной экстракции и осаждение протеин-полисахаридных комплексов этанолом проводили для всех видов сырья в одинаковых условиях. Анализ спектров (рисунок 8) показывает близость их рисунка к спектрам, полученным из семян льна разных сортов. Во всех случаях отмечается наличие одиночной протеиновой полосы. Однако обращает на себя внимание заметное различие по форме углеводной полосы и наличие липидных компонентов (1748 см⁻¹) в спектре ПС экстракта ламинарии. Спектр ПС экстракта семян льна расположен существенно выше за исключением тех областей, где регистрируются липиды ламинарии.

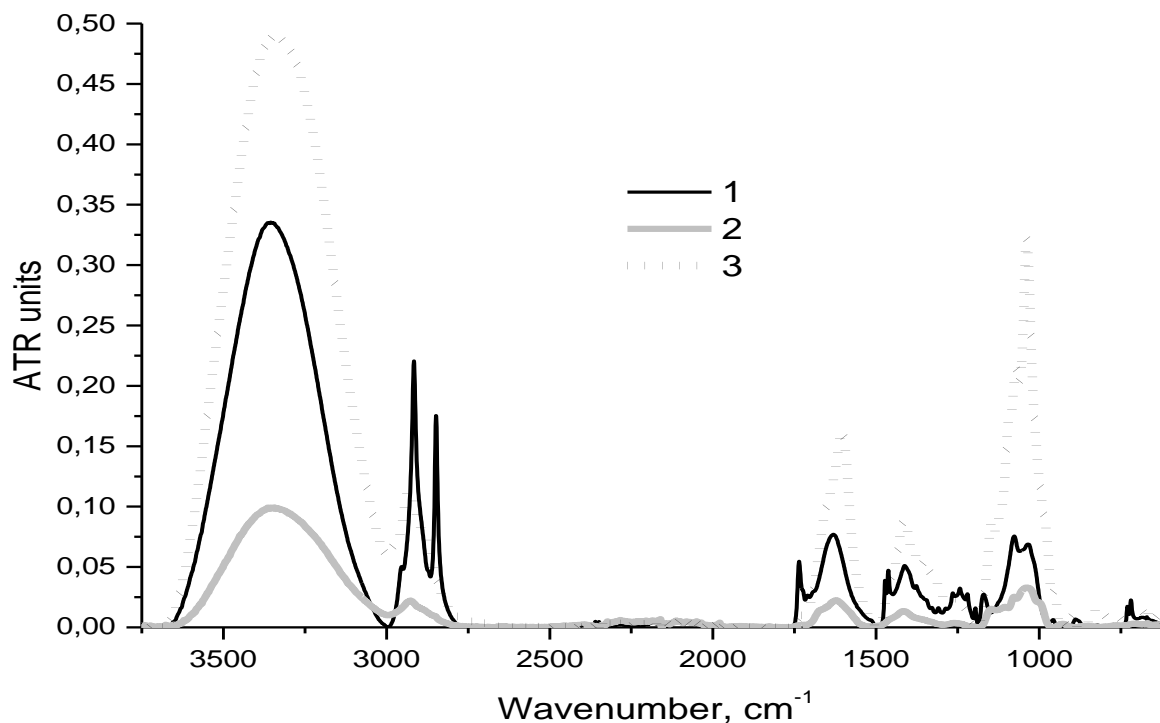


Рисунок 8. ИК спектры водных ПС экстрактов, высушенные при 20°C:
 1 – ламинарии, 2 – корня алтея, 3 – цельных семян льна промышленного
 Figure 8. IR spectra of water PS extracts dried at 20°C:
 1 – kelp; 2 – marshmallow root; 3 – whole flax seeds

Однако анализ увеличенных фрагментов (рисунок 9) протеиновой и углеводной полос в сопоставлении с данными для семян льна (рисунок 2), позволяет отметить, что на структуру полос и положение их максимумов более заметное влияние оказывают видовые, а не сортовые различия сырьевого материала. Большим структурным разнообразием отличается углеводная полоса экстракта из семян льна. Об этом же говорит и полоса протеинов, положение максимумов в которой несет информацию о том, что в составе экстрактов из семян льна преобладают пептиды с более длинными цепочками по сравнению с экстрактом ламинарии. В составе экстракта корня алтея, также как и семена льна присутствуют пептиды с разной длиной цепочки, но их содержание заметно ниже.

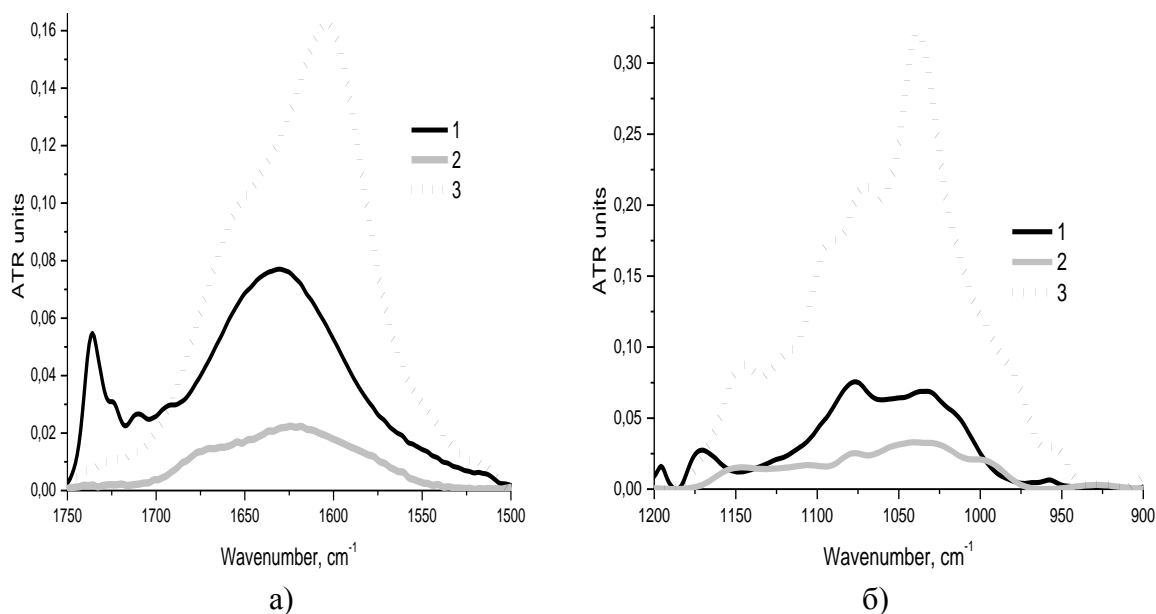


Рисунок 9. Фрагменты ИК спектров водных экстрактов, высушенные при 20°C:
 1 – ламинарии; 2 – корня алтея; 3 – цельных семян льна промышленного
 Figure 9. Fragments of IR spectra of water extracts dried at 20°C:
 1 – kelp; 2 – marshmallow root; 3 – whole flax seeds

При выделении ПС комплексов этанолом из водного экстракта корня алтея наблюдалось их седиментационное фракционирование – образование трех фракций, из которых самая тяжелая выпала в виде осадка (фр. 1), средняя распределилась в виде взвеси по всему объему раствора (фр. 2), а самая легкая (фр. 3) всплыла в виде аморфного клубка на поверхность. Наблюдаемое событие указывает на формирование во всех трех фракциях разных продуктов. Их спектральный анализ показал (рисунок 10), что в составе самой легкой фракции присутствует самое большое количество липидных компонентов, содержание которых падает в ряду фракций 3, 2, 1.

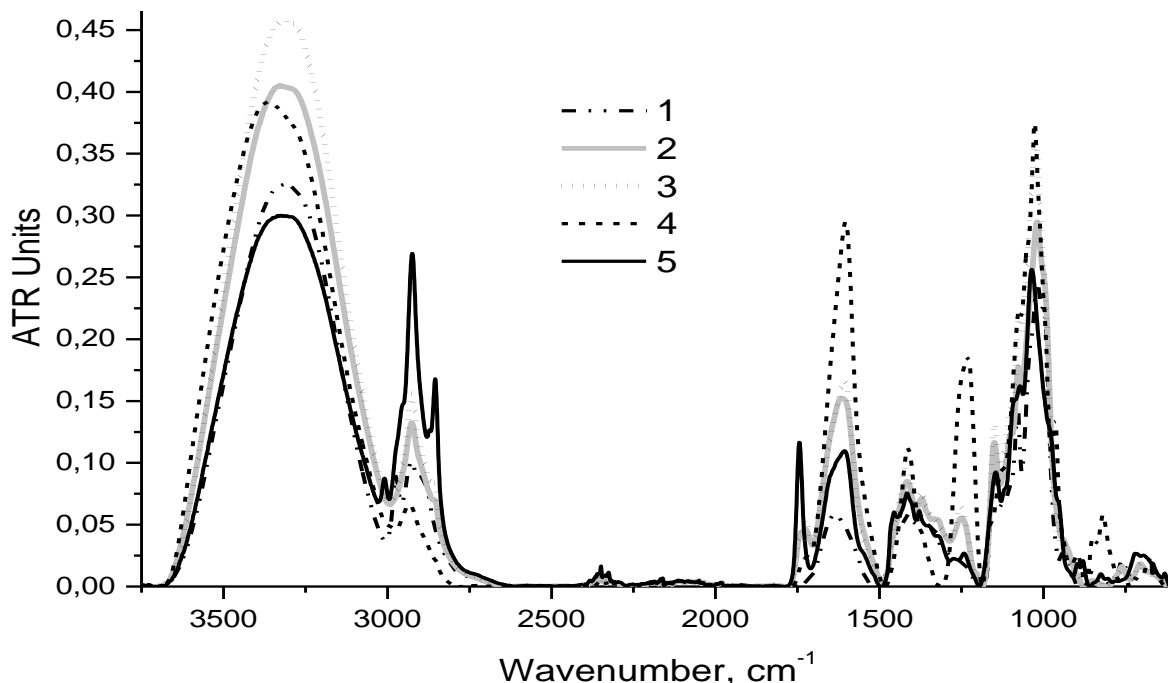


Рисунок 10. ИК спектры ПС комплексов, выделенных этанолом:
 алтей: 1 – фр. 1; 2 – фр. 2; 3 – фр. 1; 4 – ламинария; 5 – семена льна
 Figure 10. IR spectra of PS complexes isolated by ethanol:
 marshmallow: 1 – FR. 1; 2 – FR. 2; 3 – FR. 1; 4 – kelp; 5 – flax seeds

В этой же последовательности (рисунок 11а), наблюдается снижение интенсивности и небольшой высокочастотный сдвиг протеиновых полос в спектрах фракций. В спектре самой тяжелой фракции ПС комплекса алтея преобладают более короткие пептиды, на что указывает высокочастотный сдвиг максимума уширенной полосы, но отсутствуют липиды.

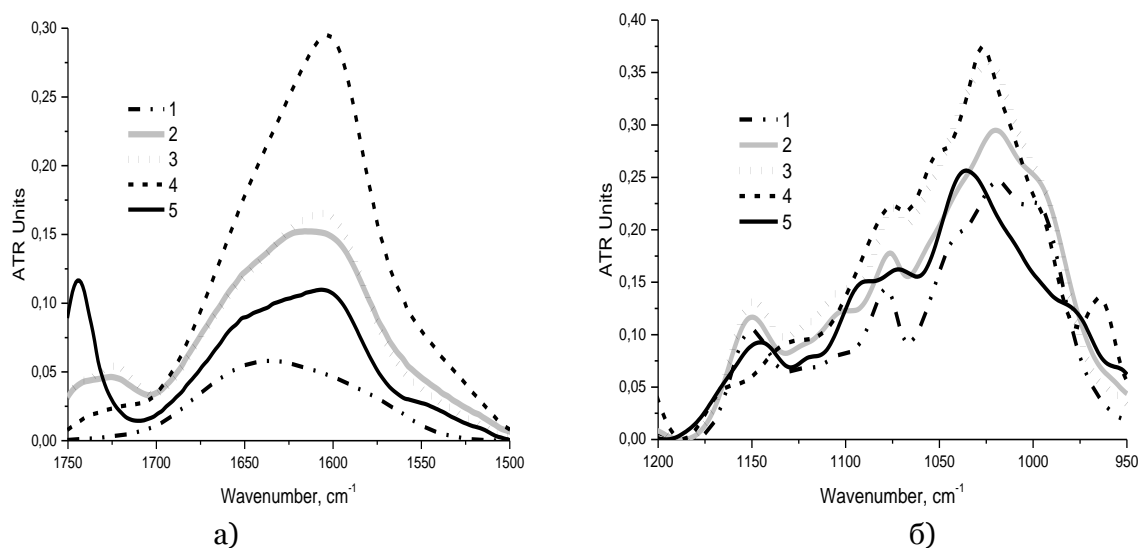


Рисунок 11. Фрагменты ИК спектров ПС комплексов, выделенных этанолом
 алтей: 1 – фр. 1; 2 – фр. 2; 3 – фр. 1; 4 – ламинария; 5 – семена льна
 Figure 11. Fragments of IR spectra of PS complexes isolated by ethanol
 marshmallow: 1 – FR. 1; 2 – FR. 2; 3 – FR. 1; 4 – kelp; 5 – flax seeds

Напротив, в более легких фракциях 2 и 3 доминируют пептиды с более длинными цепочками (низкочастотный сдвиг максимумов) и присутствуют липидные компоненты. Известно, что полисахариды, различные по химической структуре и молекулярной массе, дифференцируются и по растворимости, что является основой их фракционного разделения градиентным осаждением органическими растворителями [28, 30]. Однако, как отмечается в работе [30], растворимость полисахаридов, как правило, падает в порядке убывания молекулярной массы, что и наблюдается по изменению интенсивности максимумов кривых светопоглощения как в составе протеиновой, так и углеводной полос. Обращает на себя внимание антибатное смещение максимумов этих полос с уменьшением массы фракции и снижение степени структуризации правой ветви полисахаридной полосы фракции 1. Аналогичная ситуация имеет место в спектрах ламинарии и семян льна. Самое большое содержание длинноцепочечных пептидов в условиях эксперимента отмечено в образце ПС комплекса ламинарии (кр. 4). Полоса в спектре образца, полученного из семян льна (кр. 5), заметно отличающаяся от остальных, имеющих уширенную и сглаженную форму, может говорить о более четком подразделении пептидов в пуле пептид-полисахаридных комплексов в зависимости от длины цепочек. Таким образом, условия выделения и последующей термообработки пептид-полисахаридных комплексов слизи из цельных семян льна, слоевищ ламинарии и корня алтея влияют не только на содержание в них протеиновых фрагментов, но и на их структурные преобразования и взаимосвязи с полисахаридной матрицей.

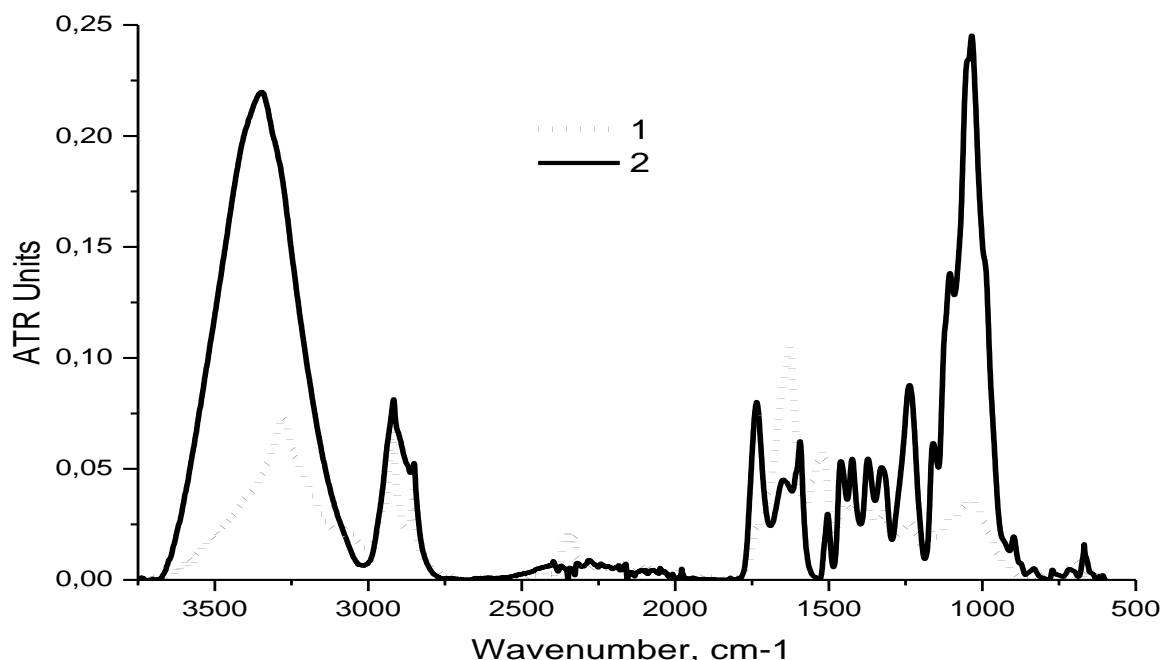


Рисунок 12. ИК спектры паутины (1) и тополиного пуха (2)
 Figure 12. IR spectra of cobwebs (1) and poplar down (2)

При получении всех представленных экспериментальных данных использовались разные технологические и температурные условия, то есть все образцы подвергались тем или иным воздействиям. На рисунке 12 с наглядно-иллюстративной целью приведены спектры двух натуральных продуктов, произведенных самими живыми организмами – растительным (тополиный пух) и животным (паутина) без каких либо внешних вмешательств. В спектре паутины присутствуют обе белковые полосы Амид-I и Амид-II, но мало липидных и полисахаридных компонентов. В спектре тополиного пуха – только одна структурированная протеиновая полоса, указывающая на наличие полипептидных компонентов, но много полисахаридных и липидных структур.

Заключение

Исследование методом ИКС НПВО продуктов водной экстракции разных типов полисахаридной слизи (межклеточной, внутриклеточной, мембранной) из растительного сырья разной природы (измельченные слоевище ламинарии и корень алтея и разные сорта цельных семян льна) показало в спектрах всех образцов ПС экстрактов и ПС комплексов присутствие одиночной в разной степени

структурированной полосы (1750–1500 см⁻¹), характерной для полипептидных компонентов в составе полисахаридной матрицы.

Седиментационное фракционирование ПС комплексов при их осаждении этанолом из ПС экстрактов корня алтея позволило отметить, что водные экстракты слизи представляют собой пул пептид-полисахаридных структур разного строения и состава, на что указывают положение максимумов протеиновых полос и их форма. Для легких фракций наблюдалось преобладание пептидов с более длинными цепочками (низкочастотный сдвиг) и присутствие в составе образцов липидных компонентов. В спектре тяжелой фракции преобладали пептиды с короткими цепочками (высокочастотный сдвиг) и отсутствовали полосы, присущие липидам.

При варьировании природы осадителя и его концентрации, условий и температуры сушки ПС комплексов, полученных из слизи всего ассортимента образцов растительного материала, в их ИК спектрах в области 1750–1500 см⁻¹ неизменно оставалась одиночная полоса, указывающая на присутствие пептидных компонентов, варьируемых по количеству, структуре, составу, интенсивность которой изменялась практически синхронно с интенсивностью полисахаридной (1030 см⁻¹) и высокочастотной (3750–3020 см⁻¹) полос. Это позволяет говорить о достаточно прочной связи пептидов с полисахаридами, которые могут служить для пептидов природными носителями в водных системах, сохраняя их функциональные свойства при использовании в пищевых производствах, фармакопее, медицине, косметологии.

Литература

1. Хавинсон В.Х. Тканеспецифическое действие пептидов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2001. Т. 132. № 8. С. 228–229.
2. Хавинсон В.Х. Единый механизм пептидной регуляции экспрессии генов и синтеза белков в живой природе // Вестник Медицинского центра Управления делами Президента Республики Казахстан. 2017. № 2(67). С. 13–18.
3. Хавинсон В.Х., Рьжак Г.А., Михайлова О.Н. Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии: достижения и перспективы // Успехи геронтологии. 2013. Т. 26. № 1. С. 11–19.
4. Хавинсон В.Х. Нобелевский лауреат И.И. Мечников. Т.1. Развитие идей И.И. Мечникова в работах по пептидной регуляции старения. СПб.: Гуманистика. 2008. 592 с.
5. Хавинсон В.Х., Умнов Р.С., Линькова Н.С., Арутюнян А.В. Молекулярно-клеточные механизмы пептидной регуляции функций мозга. М.: Наука. 2018. 222 с.
6. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Морозов В.Г., Пинелис И.С. и др. Пептидные биорегуляторы: Применение в травматологии, хирургии, стоматологии и онкологии. М.: Вузовская книга. 2004. 400 с.
7. Шустов С.Б., Хавинсон В.Х., Шутак Т.С., Ромашевский Б.В. Влияние эпитеалина на углеводный обмен и состояние сердечно-сосудистой системы у больных инсулиннезависимым сахарным диабетом. // Клиническая медицина. 1998. № 9. С. 45–48.
8. Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х. Применение пептидных биорегуляторов для профилактики рака: результаты 35-летних исследований и перспективы // Вопросы онкологии. 2009. Т. 55. № 3. С. 291–304.
9. Рьжак Г.А., Попович И.Г., Хавинсон В.Х. Перспективы применения пептидного биорегулятора для профилактики и лечения возраст-ассоциированных заболеваний опорно-двигательного аппарата (обзор экспериментальных данных) // Патогенез. 2019. Т. 17. № 3. С. 13–24.
10. Хавинсон В.Х., Шатаева Л.К. Модель комплементарного взаимодействия олигопептидов с двойной спиралью ДНК // Медицинский академический журнал. 2005. Т. 5. № 1. С. 15–23.
11. Хавинсон В.Х., Шатаева Л.К., Чернова А.А. Влияние регуляторных пептидов на транскрипцию генов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003. Т. 136. № 9. С. 328–330.
12. Гликозаминогликан-пептидный комплекс (Glicosamineglycane-peptide complex). Государственный реестр лекарственных средств. М.: Медицинский совет, 2009. Т.2. Ч.1. 568 с.; Ч.2. 560 с.
13. Menéndez T., Santiago-Vispo N.F., Cruz-Leal Y. et al. Identification and characterization of phage-displayed peptide mimetics of *Neisseria meningitidis* serogroup B capsular polysaccharide. *Int. J. Med. Microbiol.* 2011, V. 301, no. 1, pp. 16–25.
14. Хавинсон В.Х., Трофимова С.В., Трофимов А.В., Дудков А.В. и др. Методика повышения резервных возможностей организма спортсменов высокой квалификации, специализирующихся в сложнокоординационных видах спорта, с помощью пептидных биорегуляторов. СПб.: СПб ин-т биорегуляции и геронтологии. 2012. 22 с.
15. Svangard E., Goransson U., Hocaoglu Z. et al. Cytotoxic cyclotides from *Viola tricolor*. *J. Nat. Prod.* 2004, no. 67, pp. 144–147.
16. Yu R.M., Yan C.Y., Qu H.Y. et al. Progress and perspective of studies on the bioactive polypeptide from marine products. *Marine Science Bulletin (in Chinese)*. 2004, no. 23, pp. 88–93.

17. Schwartzmann G., Brondani da Rocha A., Berlinck R.G. et al. Marine organisms as a source of new anticancer agents. *Lancet Oncol.* 2001, no. 2, pp. 221–225.
18. Craik D.J., Daly N.L., Mulvenna J., et al. Discovery, Structure and Biological Activities of the Cyclotides. *Current Protein and Peptide Science.* 2004, no. 5, pp. 297–315.
19. Тутельян В.А., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Физиологическая роль коротких пептидов в питании // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003. Т. 135. № 1. С. 4–10.
20. Тутельян В.А., Хавинсон В.Х., Рьжак Г.А., Линькова Н.С. Короткие пептиды как компоненты питания: молекулярные основы регуляции гомеостаза // Успехи современной биологии. 2014. Т. 134. № 3. С. 227–235.
21. Warrand J., Michaud P., Miller G., Courtois D., Ralainirina R. Large-scale purification of water-soluble polysaccharides from flaxseed mucilage, and isolation of new anionic polymer. *Chromatographia.* 2003, V. 58, no. 5–6, pp. 331–335.
22. Цыганова Т.Б., Миневиц И.Э., Зубцов В.А., Осипова Л.Л. Перспективы глубокой переработки семян льна // Хлебопечение России. 2016. № 4. С. 12–15.
23. Guilloux K., Gaillard I., Courtois J., Courtois B., Petit E. Production of arabinoxylan-oligosaccharides from flaxseed (*Linum usitatissimum*). *J. Agric. Food Chem.* 2009, no. 57, pp. 11308–11313.
24. Gutte K.B., Sahoo A.K., Ranveer R.C. Bioactive components of flaxseed and its health benefits. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2015, V. 31, no. 1, pp. 42–51.
25. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: учеб. пособие/под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. СПб.: СпецЛит, 2004. 765 с.
26. Ущановский И.В., Ожмкова Е.В., Сульман Э.М., Мартиросова Е.И., Плащина И.Г. Генетическое разнообразие льна (*Linum usitatissimum* L.) по гликано-протеиновому составу слизи семян // Российская сельскохозяйственная наука. 2015. № 4. С. 14–17.
27. Миневиц И.Э., Осипова Л.Л. Гидроколлоиды семян льна: характеристика и перспективы использования в пищевых технологиях // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2017. № 3. С. 16–25.
28. Jian H.L., Lin X.J., Zhang W.A., Zhang W.M., Sun D.F., Jiang J.X. Characterization of fractional precipitation behavior of galactomannan gums with ethanol and isopropanol. *Food Hydrocolloids.* 2014, V. 40, pp. 115–121.
29. Тарасевич Б.Н. ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы. М.: МГУ. 2012. 55 с.
30. Миневиц И.Э., Осипова Л.Л. Фракционирование семян льна с использованием осадителей // Инновационные подходы к развитию науки и производства регионов: сб. науч. тр. Тверь: Изд-во Тверской гос. с.-х. акад., 2019. С. 106–109.
31. Hu X.T., Liu C.M., Jin Z.Y., Tian Y.Q. Preparative fractionation of dextrin by gradient alcohol precipitation. *Separation Science and Technology.* 2017, V. 52, pp. 2704–2714.
32. Скоупс Р. Методы очистки белков. М.: Мир, 1985. 358 с.

References

1. Havinson V.H. Tissue-specific action of peptides. *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2001, V. 132, no. 8, pp. 228–229 (*In Russian*).
2. Havinson V.H. Unified mechanism of peptide regulation of gene expression and protein synthesis in living nature. *Bulletin of the Medical center of the office of the President of the Republic of Kazakhstan.* 2017, no. 2(67), pp. 13–18 (*In Russian*).
3. Havinson V.H., Ryzhak G.A., Mikhailova O.N. St. Petersburg Institute of Bioregulation and gerontology: achievements and prospects. *Advances in gerontology.* 2013, V. 26, no. 1, pp. 11–19 (*In Russian*).
4. Havinson V.H. Nobel laureate I.I. Mechnikov. V. 1. *Development of I.I. Mechnikov's ideas in works on peptide regulation of aging.* St. Peterburg, Humanistics Publ., 2008. 592 p. (*In Russian*).
5. Havinson V.H., Umnov R.S., Linkova N.S., Arutyunyan A.V. *Molecular cellular mechanisms of peptide regulation of brain functions.* Moscow, Nauka Publ., 2018. 222 p. (*In Russian*).
6. Kuznik B.I., Havinson V.H., Morozov V.G., Pinelis I.S., et al. *Peptide bioregulators: Applications in traumatology, surgery, dentistry, and oncology.* Moscow, University book Publ., 2004. 400 p. (*In Russian*).
7. Shustov S.B., Havinson V.H., Shutak T.S., Tomashevsky B.V. Influence of epithalamine on carbohydrate metabolism and the state of the cardiovascular system in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clinical medicine.* 1998, no. 9, pp. 45–48 (*In Russian*).
8. Anisimov V.N., Havinson V.H. Application of peptide bioregulators for cancer prevention: results of 35-year research and prospects. *Questions of Oncology.* 2009, V. 55, no. 3, pp. 291–304 (*In Russian*).
9. Ryzhak G.A., Popovich I.G., Havinson V.H. Prospects for the use of a peptide bioregulator for the prevention and treatment of age-associated diseases of the musculoskeletal system (review of experimental data). *Pathogenesis.* 2019, V. 17, no. 3, pp. 1324. (*In Russian*).
10. Havinson V.H., Shataeva L.K. Model of complementary interaction of oligopeptides with the double helix of DNA. *Medical Academic Journal.* 2005, V. 5, no. 1, pp. 15–23 (*In Russian*).

11. Havinson V.H., Shataeva L., Chernova A.A. The Influence of regulatory peptides on gene transcription. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2003, V. 136, no. 9, pp. 328–330 (In Russian).
12. *Glicosamineglycane-peptide complex*. State register of medicines. Moscow, Medical Council Publ., 2009. V. 2, Part 1. 568 p.; Part 2. 560 p. (In Russian).
13. Menéndez T., Santiago-Vispo N.F., Cruz-Leal Y. et al. Identification and characterization of phage-displayed peptide mimetics of *Neisseria meningitidis* serogroup B capsular polysaccharide. *Int. J. Med. Microbiol.* 2011, V. 301(1), pp. 16–25 (In Russian).
14. Havinson V.H., Trofimova S.V., Trofimov A.V., Dudkov A.V., et al. *Method of increasing the reserve capacity of the body of highly qualified athletes specializing in complex coordination sports using peptide bioregulators*. St. Petersburg, St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology Publ., 2012. 22 p. (In Russian).
15. Svargard E., Goransson U., Hocaoglu Z. et al. Cytotoxic cyclotides from *Viola tricolor*. *J. Nat. Prod.* 2004, no. 67, pp. 144–147.
16. Yu R.M., Yan C.Y., Qu H.Y. et al. Progress and perspective of studies on the bioactive polypeptide from marine products. *Marine Science Bulletin (in Chinese)*. 2004, no 23, pp. 88–93.
17. Schwartzmann G., Brondani da Rocha A., Berlinck R.G. et al. Marine organisms as a source of new anticancer agents. *Lancet Oncol.* 2001, no 2, pp. 221–225.
18. Craik D.J., Daly N.L., Mulvenna J., et al. Discovery, Structure and Biological Activities of the Cyclotides. *Current Protein and Peptide Science*. 2004, no 5, pp. 297–315.
19. Tutelyan V.A., Havinson V.H., Malinin V.V. Physiological role of short peptides in nutrition. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2003, V. 135, no. 1, pp. 4–10 (In Russian).
20. Tutelyan V.A., Havinson V.H., Ryzhak G.A., Linkova N.S. Short peptides as nutrition components: molecular bases of homeostasis regulation. *Advances in Modern Biology*. 2014, V. 134, no. 3, pp. 227–235 (In Russian).
21. Warrand J., Michaud P., Miller G., Courtois D., Ralainirina R. Large-scale purification of water-soluble polysaccharides from flaxseed mucilage, and isolation of new anionic polymer. *Chromatographia*. 2003, V. 58, no. 5/6, pp. 331–335.
22. Tsyganova T.B., Minevich I.E., Zubtsov V.A., Osipova L.L. Prospects for deep processing of flax seeds. *Baking in Russia*. 2016, no. 4, pp. 12–15 (In Russian).
23. Guilloux K., Gaillard I., Courtois J., Courtois B., Petit E. Production of arabinoxylan-oligosaccharides from flaxseed (*Linum usitatissimum*). *J. Agric. Food Chem.* 2009, no. 57, pp. 11308–11313.
24. Gutte K.B., Sahoo A.K., Ranveer R.C. Bioactive components of flaxseed and its health benefits. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2015, V. 31(1), pp. 42–51.
25. Yakovlev G.P., Blinova K.F. (Ed.) Medicinal plant raw materials. Pharmacognosy. St. Petersburg, Spetslit Publ., 2004. 765 p. (In Russian).
26. Ushapovsky I.V., Ozhimkova E.V., Sulman E.M., Martirosova E.I., Plaschina I.G. Genetic diversity of flax (*Linum usitatissimum* L.) according to the glycan-protein composition of seed mucus. *Russian Agricultural Science*. 2015, no. 4, pp. 14–17 (In Russian).
27. Minevich I.E., Osipova L.L. Hydrocolloids of flax seeds: characteristics and prospects of use in food technologies. *Processes and Food Production Equipment*. 2017, no. 3, pp. 16–25 (In Russian).
28. Jian H.L., Lin X.J., Zhang W.A., Zhang W.M., Sun D.F., Jiang J.X. Characterization of fractional precipitation behavior of galactomannan gums with ethanol and isopropanol. *Food Hydrocolloids*. 2014, V. 40, pp. 115–121.
29. Tarasevich B.N. IR spectra of the main classes of organic compounds. *Resource materials*. Moscow, Moscow state university Publ., 2012. 55 p. (In Russian).
30. Minevich I.E., Osipova L.L. Fractionation of flax seeds using precipitators. *Innovative approaches to the development of science and production of regions*. Collection of work. Tver, Tver State Agricultural Academy Publ., 2019, pp. 106–109 (In Russian).
31. Hu X.T., Liu C.M., Jin Z.Y., Tian Y.Q. Preparative fractionation of dextrin by gradient alcohol precipitation. *Separation Science and Technology*. 2017, V. 52, pp. 2704–2714.
32. Scopes R. *Methods of protein purification*. Moscow, Mir Publ., 1985. 358 p. (In Russian).

Статья поступила в редакцию 21.01.2020