

ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ПАПАЇНУ

I. V. КОПИТИНА¹, O. A. АНДРЕЄВА²

*Київський національний університет технологій та дизайну,
вул. Мала Шияновська (Немировича-Данченка), 2, Київ, 01011,
¹i.v.kopytina@gmail.com, ²wayfarer14@ukr.net*

У даній публікації розглянуто особливості будови та фізико-хімічні властивості ферментного препарату «папаїн», важливі для розуміння його технологічних можливостей та виробничого потенціалу, у тому числі для шкіряного виробництва.

Папаїн є рослинним ферментом, виділеним із латексу папайї або динного дерева (*Carica papaya L.*) (рис. 1) – тропічної трав'янистої сукулентної рослини, (тобто рослини, що має спеціальні тканини для запасання води) із самонесучими стеблами; росте у всіх тропічних країнах та багатьох субтропічних регіонах світу. При цьому немає жодних обмежень через сезонність, оскільки папайя доступна практично цілий рік [1, 2].



Рисунок 1 – Дерево папайї

Папаїн отримують шляхом розрізання шкірки плода незрілої папайї з подальшим збиранням та сушінням латексу, що випливає з розрізу. Чим зеленіший плід, тим активніший папаїн. З точки зору ензимології папаїн (EC 3.4.22.2) є ендолітичним ферментом цистеїнової протеази рослин, який належить до надродини папаїну, і, як протеолітичний фермент, має вирішальне значення у багатьох життєво важливих біологічних процесах у всіх живих організмах. Він виявляє велику протеолітичну активність щодо

білків, пептидів з коротким ланцюгом, ефірів амінокислот та амідних зв'язків й широко застосовується у медицині, фармації, косметиці, харчовій та легкій промисловості. Фермент розщеплює переважно пептидні зв'язки, що включають основні амінокислоти, особливо аргінін, лізин та залишки фенілаланіну. Унікальна структура папаїну зумовлює його функціональність, яка допомагає зрозуміти, як працює цей протеолітичний фермент, і наскільки він корисний для різних цілей. Багато сегментів кінцевого використання папаїну вказує на те, що він має високий промисловий попит. Оскільки ринок папаїну має гарні перспективи, виробництво папаї та видобуток папаїну можуть стати високим джерелом доходу навіть для дрібних фермерів та виробничників [1, 3].

Докладну інформацію про структуру та властивості цієї сполуки надають результати рентгенівської дифракції, хроматографії, а також інших хімічних та інструментальних методів аналізу. Так, при дослідженні зразка папаїну PDB, номер 1CVZ, встановлено, що він являє собою одноланцюговий білок з молекулярною масою 23406 Да і складається з 212 амінокислот з чотирма дисульфідними містками та каталітично важливими амінокислотними залишками у положеннях Gln19, Cys25, His158 и His159. На N-кінці поліпептидного ланцюга папаїну знаходиться ізолейцин, а на С-кінці – аспарагін [4].

При кімнатній температурі папаїн має вигляд твердої безбарвної кристалічної речовини, що добре розчиняється у воді, водних сольових розчинах і спирті. На відміну від активного у кислому середовищі пепсину, ще одного поширеного ферменту, папаїн активний у широкому діапазоні pH (3-12, оптимум 5-8). Свою активність він зберігає і у широкому температурному діапазоні (до 50-60 °C), маючи відносно широку специфічність. При pH 5-7,5 папаїн гідролізує аміди, пептиди, білки та ефіри основних амінокислот з незаміщеною аміногрупою [1, 2].

Одним із пріоритетних шляхів забезпечення сталого розвитку галузі, орієнтованих на вирішення проблеми створення конкурентоспроможної

продукції, більш раціонального використання сировинно-матеріальних та енергетичних ресурсів, дбайливого ставлення до навколошнього середовища, є ензимізація виробництва [5, 6]. У зв'язку з цим на кафедрі біотехнології, шкіри та хутра КНУТД проводяться комплексні дослідження в цьому ракурсі шляхом вивчення як відомих, так і більш сучасних ферментних препаратів з метою обґрунтованого їх застосування у виробництві натуральної шкіри [6-8].

У літературі наводяться результати досліджень із застосування папаїну, головним чином, на стадії підготовчих процесів [9, 10], проте, з урахуванням останніх розробок щодо застосування ферментів у перед- та післядубільних процесах [11, 12], цікаво з'ясувати ефективність дії цього ферменту на інших, більше пізніх стадіях технологічного циклу. Виходячи з викладеного, за завданням промисловості досліджено основні властивості та спектроскопічні характеристики комерційного ферментного препарату «папаїн» китайського виробництва. Експериментально встановлено (табл. 1), що за своїми фізико-хімічними та мікробіологічними характеристиками досліджуваний препарат відповідає вимогам Food Standard 15.

Для встановлення особливостей структури папаїну застосували метод інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є. Дослідження проводили за допомогою FTIR спектрометра Spectrum 1000 (Perkin Elmer, США), прес-форми для ІЧ спектрометра Presswerkzeug PW 20 (Narva, Німеччина), аналітичних ваг AccuLab ALC 110.4 (Sartorius, Великобританія), а також таблеток KBr. Після проведення необхідних маніпуляцій отримали FTIR-спектр папаїну, на якому спостерігається низка піків різної інтенсивності, з яких найбільш вагомими є: *a)* пік незначної інтенсивності в діапазоні $3750\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$, що може вказувати на наявність у структурі груп O–H; *b)* більш характерний, «різкий» пік при 1133 cm^{-1} , що відповідає вторинним і третинним амінам; *c)* два більш слабкі піки при 670 та 617 cm^{-1} , які можна ототожнювати з коливаннями

сірковмісних угруповань, що не заперечує усталеним уявленням про папайн як цистеїнову протеїназу.

Таблиця 1 – Показники досліджуваного комерційного препарату «папайн»

Показник	Стандарт	Результат
<i>Органолептичне оцінювання:</i>		
Зовнішній вигляд	білий дрібний порошок	відповідає
Запах проби	характерний	відповідає
<i>Хімічний аналіз:</i>		
Ферментативна активність	≥ 800 кат/г	802 кат/г
Ситовий аналіз	100 % крізь 80 отворів	відповідає
Втрати при висиханні	< 8,00 %	відповідає
Меламін	відсутній	відсутній
Пероксид водню	< 10 %	< 10 %
Важкі метали	< $10,00 \cdot 10^{-6}$	відповідає
Свинець (Pb)	< $1,00 \cdot 10^{-6}$	відповідає
Арсеній (As)	< $1,00 \cdot 10^{-6}$	відповідає
Залишковий пестицид	відсутній	відповідає
<i>Мікробіологічне тестування</i>		
Загальна кількість бактерій	< 1000 КУО/г	відповідає
Кількість цвілі та дріжджів	< 100 КУО/г	відповідає
Salmonella	відсутній	не виявлено
E. coli	відсутній	не виявлено

Результати проведеного дослідження дозволяють розширити та систематизувати уявлення про папайн як ферментний препарат з високою функціональністю, стійкою активністю в широкому діапазоні pH і температури, і будуть використані у подальшій роботі з ензимізації шкіряного виробництва.

Література

1. Ezekiel, Amri; Florence Mamboya. Papain, a Plant Enzyme of Biological Importance: A Review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 2012. 8 (2). 99–104.
2. Jaime, A.; S. Teixeira Da; R. Zinia, et al. Papaya (Carica papaya L.). Biology and biotechnology. *Tree Forest. Sci. Biotechnol.* 2007. 1. 47–73.

3. Shouket, H. A.; Ameen, I.; Tursunov, O., et al. Study on industrial applications of papain: A succinct review. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science.* **2020**. 614. 012171.
4. Drenth, J.; Jansonius, J. N.; Koekoek, R.; Wolthers, B. G. The Structure of Papain. *Advances in Protein Chemistry.* **1971**. 25. 79–115.
5. Choudhary, R. B.; Jana, A. K.; Jha, M. K. Enzyme technology applications in leather processing. *Indian Journal of Chemical Technology.* **2004**. 11. 659–671.
6. Копитіна, І.; Андреєва, О.; Мокроусова, О. Інноваційні підходи до ензимізації шкіряного виробництва. *Вісник ХНУ. Технічні науки.* **2023**. 5 (315), 227–234.
7. Колесник, Т. О.; Андреєва, О. А. Дослідження процесу відмочування шкіряної сировини в присутності ферментних препаратів. *Вісник ХНУ. Технічні науки.* **2020**. 2 (283), 251–254.
8. Данилкович, А. Г.; Ліщук, В. І.; Охмат, О. А. Біотехнологічні процеси в технології формування шкіряних матеріалів. *Наукові праці НУХТ.* **2018**. 24 (5). 14–24.
9. Arya Prashant, S.; Yagnik Shivani, M.; Rajput Kiransinh, N., et al. Understanding the Basis of Occurrence, Biosynthesis, and Implications of Thermostable Alkaline Proteases. *Applied Biochemistry and Biotechnology.* **2021**. 193 (12). 4113-4150.
10. Bin, Lyu; Kun, Cheng; Jianzhong, Ma, et al. A cleaning and efficient approach to improve wet-blue sheep leather quality by enzymatic degreasing. *Journal of Cleaner Production.* **2017**. 148(1). 701–708.
11. Biškauskaite, R.; Valeika, V. Wet Blue Enzymatic Treatment and Its Effect on Leather Properties and Post-Tanning Processes. *Materials.* **2023**. 16. 2301.
12. Jayakumar, G. C.; Karthik, V.; Jeyas Kandhan, S.; Kanagaraj, J. Effect of Enzymatic Treatment in Leather Manufacture at Different Processing Stage. *The Journal of American Leather Chemists Association.* **2022**. 117 (12). 534–541.