

УДК 577.112:594.3(477.75)

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛЬНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЛИЗИ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ *HELIX ALBESCENS* И
*EOBANIA VERMICULATA***

Резник Е.П., Калиновский П.С., Долгов М.А.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: 060394178@mail.ru*

Проведены сравнительные исследования белка в слизи улиток двух видов. Показано, что различия в содержании белка не достигают статистически значимого уровня. Слизь *Helix albescens* менее устойчива к действию денатурирующих агентов. Полученные данные позволят осуществить выработку рекомендаций по совершенствованию методов получения и переработке слизи в фармацевтических целях.

Ключевые слова: наземные моллюски, слизь, содержание белка.

ВВЕДЕНИЕ

Рост потребления биологических ресурсов, и антропогенного воздействия на окружающую среду обуславливает поиск новых, ранее не используемых источников сырья и одновременного уточнения информации об уже используемых, с целью оптимизации их эксплуатации.

Гелицекультура, как один из таких источников, в последнее время привлекает всё более пристальное внимание специалистов. Не будучи традиционным источником пищевых или иных ресурсов, наземные моллюски лишь относительно недавно начали считаться перспективным источником сырья для фармакологической, пищевой и парфюмерной промышленности, в связи с чем многие аспекты их биохимии, физиологии и репродуктивной биологии остаются относительно слабо изученными.

С другой стороны, рядом специалистов указываются относительно небольшие величины запаса биоматериала в естественных условиях, и ряд проблем, связанных с их искусственным разведением, что в значительной степени ограничивает их значение как источника пищевых ресурсов.

В то же время, ряд исследований, указывает на перспективы использования наземных моллюсков в фармакологических целях. Отмечен ряд преимуществ экстрактов на основе слизи наземных моллюсков при разработке и производстве лекарственных и косметологических препаратов.

В связи с этим целью нашего исследования является изучение биохимических показателей и свойств слизи *Eobania vermiculata* Muller, 1774 и *Helix albescens* Rossmasler, 1839 как широко распространённых и пригодных для культивирования в

Крыму. В качестве первого этапа исследований была проведена сравнительная оценка содержания белков в слизи исследуемых моллюсков, а также влияние на их содержание первичной технологической обработки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили взрослые половозрелые особи наземных брюхоногих моллюсков видов *Eobania vermiculata* Muller, 1774 и *Helix albescens* Rossmassler, 1839 [1]. Данные виды в Крыму распространены повсеместно, что облегчает их сбор и формирование выборочных совокупностей для сравнительных исследований [2-8].

Сбор проводился в районе Симферопольского водохранилища в период с конца апреля по начало мая 2009 г. – сразу после выхода из зимней спячки. Следует заметить, что особенности жизненного цикла исследуемых моллюсков, позволяют уверенно предполагать сезонные изменения содержания биологически-активных веществ в их слизи.

Таким образом, изучение биохимических показателей будет проводиться в течение всего периода их физиологической активности.

Отбор особей в формируемые совокупности велся на основании критериев половозрелости и однородности выборки по размеру особей.

Получение слизи проводили общепринятым методом в модификации Попова В.Н. [9]. Физиологически активную улитку экспозиционировали на покрытой поваренной солью (NaCl) поверхности, вследствие чего оказывалось раздражающее действие на железы, расположенные на нижней поверхности ноги. Это приводит к интенсивному выделению слизи, первые порции которой (с высоким содержанием NaCl) удаляют путём промывания в дистиллированной воде. Таким образом, достигается минимизация влияния процесса получения слизи на её ионный и белковый состав.

Разделение белка по отношению к потенциальным денатурирующим агентам проводилось путём высаливания сульфатом аммония с последующим центрифугированием при 3000 об/мин (380g) в течение 5 мин.

Определение содержания белка в исследуемом образце, проводилось по Лоури, а также микробиуретовым методом [10, 11], что обусловлено как простотой и надёжностью обоих методов, так и малой чувствительностью последнего к особенностям структуры белков различной природы.

Обработка полученных результатов проводилась при помощи общепринятых методов описательной статистики, анализ средних величин показателей проводился при помощи критерия Стьюдента с проверкой условий применимости согласно [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования представлены в Таблице. Обращает на себя внимание относительно больше содержание белка в пробах, полученных из *Helix albescens*, которое, однако, не достигает статистически достоверного уровня. Фильтрация не оказывает заметного влияния на содержания белка (сохраняется 99 % и 96 % от исходного уровня соответственно), таким образом можно предположить, что

биологические свойства, обуславливающие ценность белковой компоненты материала при фильтрации не теряются.

Таблица.

Содержание белка в слизи наземных моллюсков *Eobania vermiculata* и *Helix albescens* ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

	Вид	<i>Helix albescens</i> (n=30)			<i>Eobania vermiculata</i> (n=30)		
		цельная слизь	фильтрованная слизь	осаждение	цельная слизь	фильтрованная слизь	осаждение
А	содержание белка г/л	28,9±2,9	28,7±6,6	15,3±1,5	24,4±5,6	23,5±5,4	19,9±2,0
Б	содержание белка г/л	27,7±2,8			32,9*±2,5		

Примечание: * – различия между показаниями биуретового метода (А) и метода Лоури (Б) статистически достоверны при $p < 0,05$.

Отдельно необходимо отметить различный характер реакции проб на действие такого денатурирующего агента, как сульфат аммония: в то время как у проб, полученных из *Helix albescens*, снижение содержания белка в пробах составило 13,4г/л (46,6 %), для *Eobania vermiculata* это снижение составило только 3,6г/л (15,2 %) и, таким образом разница между содержанием белка в пробах достигла статистически значимого уровня.

При определении содержания белка по Лоури, выявлены достоверные различия для *Eobania vermiculata* в случае цельной слизи (по Лоури содержание белка достоверно выше), что свидетельствует об отличиях в качественном составе белковой фракции между этими двумя видами. Опираясь на выводы сделанные в [12] можно предположить, что в слизи *Eobania vermiculata* относительное содержание глобулиновых белков выше чем у *Helix albescens*.

Исходя из вышеизложенного, сравнение уровня содержания белка позволяет говорить о различной устойчивости белков слизи *Eobania vermiculata* и *Helix albescens* к денатурирующему действию сульфата аммония. При этом они обусловлены различным количественным соотношением белков разных фракций. Эти различия необходимо учитывать при оценке возможности использования слизи различных улиток в целях фармакологической промышленности [2, 8].

ВЫВОДЫ

1. Содержание белка в цельной слизи *Helix albescens* и *Eobania vermiculata* не демонстрирует статистически достоверных различий (28,9±2,9 и 24,4±5,6 г/л соответственно), и не претерпевает значимых изменений при фильтрации.
2. Устойчивость слизи *Eobania vermiculata* к осаждению сульфатом аммония ниже чем для *Helix albescens*. Снижение концентрации составляет 15,2 % и 46,6 % соответственно.

3. Полученные данные, позволят осуществить выработку рекомендаций по совершенствованию методов получения и переработки нативной слизи в фармацевтических целях.

Список литературы

1. Шилейко А.А. Наземные моллюски надсемейства *Helicoidea* / Шилейко А.А. // В серии: Фауна СССР. Моллюски. — Л.: Наука, 1978 — Т.3. — 384 с.
2. Бескаравайный М.М. Предварительные итоги акклиматизации съедобной улитки *Helix lucorum* L. в Карадагском заповеднике / М.М. Бескаравайный, В.Н. Попов // Проблемы формирования экологического мировоззрения. — Симферополь, 1998. — С. 138–139.
3. Жизнь животных / под ред. Л.А. Зенкевича. — М.: Просвещение, 1968. — Т.2. — С. 71–90.
4. Крылов А.А. Руководство для лаборантов клинико-диагностических лабораторий / А.А. Крылов, А.М. Кац, Л.А. Канторович — Л.: Медицина, 1981. — 212 с.
5. Леонов С.В. Влияние вида — конкурента на темп роста молодежи обыкновенной улитки (*Helix albescens* Rossmassler, 1839) // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского: серия "Биология, Химия". — 2001. — Т.14, №2. — С. 107–110.
6. Остапец М. Г. Практикум по биохимии / М.Г. Остапец, Н.Н. Романская — Л.: Наука, 1987. — С. 363–364.
7. Плохинский Н.А. Биометрия / Плохинский Н.А. — М.: МГУ, 1970. — 367 с.
8. Попов В.Н. Съедобные улитки Украины и их хозяйственное использование / В.Н. Попов // Симферополь: РЦНТЭИ, 1998. — С. 65
9. Попов В.Н. Влияние антропогенных факторов на видовое разнообразие наземной малакофауны Сасык — Сивашского района Крыма / В.Н. Попов, Е.В. Хайленко // Геолого- и биоэкол. проблемы Северного Причерноморья. — Тирасполь, 2001. — С. 224–225
10. Практикум по органической, физиологической, коллоидной и биологической химии / Мин-во здравоохранения КазССР. Алма-Атинский гос. Мед.ин-т; под ред. П.А. Верболович. — Алма-Ата: Наука, 1973. — 334 с.
11. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии / под ред. П. Л. Сенова. — М.: Медицина, 1978. — 360 с.
12. Альтшулер Б.Ю. Методические аспекты лабораторного определения низких концентраций белка в биологических жидкостях (опыт применения математического анализа) / Б.Ю. Альтшулер [и др.] // <http://medi.ru/pbmc/8810407.htm>

Резнік Е.П. Порівняльна характеристика окремих біохімічних показників слизу наземних молюсків видів *Helix albescens* і *Eobania vermiculata* / Е.П. Резнік, П.С. Калиновський, М.А. Долгов // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. — 2010. — Т. 23 (62). — № 1. — С. 96-99.

Проведені порівняльні дослідження білка равликів двох видів. Показано, що відмінності у вмісті білка не досягають статистично значимого рівня. Слиз *Helix albescens* менш улаштована до дії денатуруючих агентів. Отримані дані дозволяють здійснити вироблення рекомендацій щодо вдосконалення методів отримання та переробки слизу в фармацевтичних цілях.

Ключові слова: наземні молюски, слиз, кількість білків

Ryznyk E.P. Comparative characteristics of separate biochemical indexes of ground mollusc's mucus species *Helix albescens* and *Eobania vermiculata* / E.P. Ryznyk, P.S. Kalinovsky, M.A. Dolgov // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. — Series: Biology, chemistry. — 2010. — V.23 (62). — № 1. — P. 96-99.

Comparative research of protein in mucus of two species of snails have been done. It is shown that difference of content of protein statistically insignificant. Mucus of *Helix albescens* is less stable to denature agents. Obtained data allows to work-out recommendations in methods of improving mucus obtaining and processing at pharmaceutical goals.

Keywords: terrestrial mollusks, mucus, protein contents.

Поступила в редакцию 15.03.2010 г.