

ՀՀ ԳԱԱ «ՀԱՅԿԵՆՍԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱ» ԳԱԿ

ՄԻՆԱՍՅԱՆ ԷԼԱ ՎԱՐԴԱՆԻ

ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔԵՐԻՑ ՄԵԼԱՆԻՆԻ ՍՏԱՅՄԱՆ ԵՂԱՆԱԿԻ ՄՇԱԿՈՒՄ
ԵՎ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆ

Գ.00.07 - «Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ
քիմիական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2025

SPC «ARMBIOTECHNOLOGY» NAS RA

MINASYAN ELA VARDAN

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE EXTRACTION OF MELANIN FROM PLANT
RAW MATERIALS AND INVESTIGATION OF ITS PROPERTIES

SYNOPSIS

of dissertation for conferring of scientific degree of
Candidate of Chemical Science (PhD)
in the specialty 03.00.07 – «Microbiology. biotechnology»

YEREVAN– 2025

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ -ում:

Գիտական ղեկավար՝ ք.գ.դ., պրոֆեսոր Արմեն Եղիշեի Աղաջանյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կ.գ.դ., պրոֆեսոր Հովիկ Հարությունի Փանոսյան
ք.գ.դ., Սերգեյ Սուրենի Հայրապետյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԳԱԱ Հր. Բունիաթյանի անվան
կենսաքիմիայի ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը կայանալու է 2025թ. դեկտեմբերի 19-ին
ժամը 15⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ում գործող ՀՀ ԲԿԳԿ-ի
Կենսատեխնոլոգիայի 018 մասնագիտական խորհրդի նիստում:

Հասցե՝ 0056, ՀՀ, ք. Երևան, Գյուրջյան 14, հեռ./ֆաքս՝ (+374 10) 65 41 80:

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա»
ԳԱԿ-ի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է 2025թ. նոյեմբերի 19-ին:

018 մասնագիտական խորհրդի

Գիտական քարտուղար, կ.գ.թ.՝

Գ. Ե. Ավետիսովա

The theme of dissertation has been approved at SPC "Armibiotechnology" NAS RA.

Scientific supervisor: Dr. of Chemical Sciences, prof. Armen Ye. Aghajanyan

Official opponents: Dr. of Biological Sciences, prof. Hovik H. Panosyan

Dr. of Chemical Sciences, Sergey S. Hayrapetyan

Leading organization: Institute of Biochemistry after H. Buniatyan NAS RA

The defense of the dissertation will be held on December 19, 2025, at 15⁰⁰ at the
session of 018 Specialized Council on Biotechnology of HESC of RA at SPC
"Armibiotechnology" NAS RA.

Address: 0056, RA, Yerevan, 14 Gyurjyan str., tel./fax (+374 10) 65 41 80.

The dissertation is available at the library of SPC "Armibiotechnology" NAS RA.

The synopsis has been sent on 19th of November, 2025.

Scientific Secretary of 018 Specialized Council, PhD

G. Ye. Avetisova

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը: Բնական ծագման կենսաապոլիմերները կարևոր դեր են խաղում կենդանի օրգանիզմների կենսագործունեության մեջ՝ ապահովելով բջջային կառուցվածքի կայունությունը, կարգավորելով կենսաքիմիական գործընթացները և իրականացնելով բազմաթիվ ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական գործառնություններ: Կենդանի օրգանիզմների կենսագործունեության պրոցեսներում առանցքային ֆունկցիաներ իրականացնող կենսաապոլիմերների ուսումնասիրությունը և կիրառումը արդիական խնդիրներից են հանդիսանում: Դրանց շարքում հատուկ տեղ են զբաղեցնում մելանինները՝ որոնք իրենցից ներկայացնում են բազմաֆունկցիոնալ կենսաապոլիմերներ՝ օժտված ազատ ռադիկալներ կլանելու հատկություններով: Մելանինների մոլեկուլներում առկա պարամագնիսական կենտրոններով է պայմանավորված դրանց ֆոտո- և ռադիոպաշտպանիչ, հակաօքսիդնատ, հակամանրէային, իմունոմոդուլատոր և այլ հատկությունները, որոնց շնորհիվ մելանինները լայն կիրառություն են գտել բժշկության, դեղագործության, կոսմետոլոգիայի, գյուղատնտեսության, սննդարդյունաբերության այլ բնագավառներում: Այդ իսկ պատճառով, մելանինի ստացման նոր ելանյութերի հայտնաբերումը ու ստացված մելանինի գործնականում կիրառման հնարավորությունների ընդլայնումը համարվում է կարևոր և արդիական խնդիր:

Մելանինի լուծահանման ավանդական աղբյուրներն ու տեխնոլոգիաները կապված են մի շարք սահմանափակումների հետ, ինչպիսիք են՝ տեխնոլոգիական արդյունավետությունը, բարձր արժեքը, արտադրանքի մաքրությունն, ինչպես նաև վերջինիս կիրառական նշանակությունը տարբեր ոլորտներում: Առկա տեխնոլոգիաները հաճախ պահանջում են բարդ ու թանկ միջոցներ՝ օրգանական լուծիչներ կամ թանկարժեք սարքավորումներ, որոնք կարող են սահմանափակել ստացման հնարավորությունները և բարձրացնել ստացված նյութի ինքնարժեքը:

Ելնելով դրանից, բուսական հումքի օգտագործումը մելանինի ստացման համար բացում է նոր ուղիներ՝ հնարավորություն տալով ստեղծել առավել մատչելի և էկոլոգիապես մաքուր տեխնոլոգիաների մշակում:

Բուժական և պրոֆիլակտիկ նպատակներով մելանինի համատարած օգտագործման հիմնական խոչընդոտը դրա պատրաստուկների լուծելիությունն է և բարձր գինը, հետևաբար աշխատանքներ են տարվում մելանինի լուծվող ձևերի ստացման ուղղությամբ: Բոլոր հիմքերը կան ենթադրելու, որ լուծվող մելանինները դեղաբանական ակտիվ նյութերի նոր դաս են, որոնք լայն և համակողմանի ուսումնասիրության կարիք ունեն:

Բուսական աղբյուրներից մելանինի անջատման և մաքրման արդյունավետ եղանակների մշակումը գտնվում է հետազոտման փուլում: Ուստի, բուսական հումքից մելանինի անջատման, մաքրման և նույնականացման վերաբերյալ նոր տեխնոլոգիաների մշակումը հանդիսանում է գիտական ու գործնական արդիականություն ունեցող խնդիր:

Այսպիսով, ընտրված թեման արդիական է, և այդ ուղղությամբ տարվող աշխատանքները, որոնք նպատակ ունեն արդյունավետորեն օգտագործել բնական ռեսուրսները և արտադրական թափոնները շարունակում են լինել պահանջված:

Աշխատանքի նպատակը և խնդիրները: Ատենախոսական աշխատանքում նպատակ է դրվել մշակել բուսական տարբեր տեսակի հումքերից և դրանց թափոններից ջրալույծ մեղանիների ստացման արդյունավետ և մատչելի եղանակ, իրականացնել անջատված մեղանիների ֆիզիկաքիմիական հատկությունների ուսումնասիրում և կենսաբանական որոշ հատկությունների գնահատում՝ այդ թվում հակաօքսիդանտային, հակամանրէային և կենսապաշտպանիչ:

Նպատակի իրականացման համար լուծվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Հումքի ընտրություն. մասնավորապես՝ սև խաղողի կեղևի, բանանի կեղևի, արևածաղկի սերմերի, սև թեյի, չազա սնկի և սուրճի մեջ մեղանիների առկայության ստուգում և ելային հումքերից անջատված մեղանիների ելքի գնահատում:
2. Բուսական հումքերից մեղանիների անջատման տեխնոլոգիական ցուցանիշների օպտիմալացում: Տեխնոլոգիական ցիկլի ընթացքում մեղանիների անլուծելի ձևի փոխակերպում ջրալույծի:
3. Անջատված պիգմենտի մեղանիներին պատկանելիության հաստատում և բնութագրում որակական ռեակցիաների, ՈւՄ-տեսանելի, ԻԿ սպեկտրաչափական, ԲԱՀԲ և էլեմենտային անալիզի եղանակների կիրառմամբ:
4. Բուսական մեղանիների հակաօքսիդանտային, հակամանրէային և կենսապաշտպանիչ հատկությունների ուսումնասիրություն:
5. Բուսական մեղանիների կողմից ծանր մետաղի իոնների կլանման և ծխախոտի ծխից ազատ ռադիկալները նվազեցնելու հատկությունների ուսումնասիրություն:
6. Բուսական մեղանիների կենսախթանիչ հատկության ուսումնասիրություն:

Աշխատանքի գիտական նորույթը: Ներկայացված աշխատանքի գիտական նորույթը կայանում է բուսական հումքերից և դրանց արտադրական թափոններից ջրալույծ մեղանիների ստացման նոր, մատչելի և էկոլոգիապես մաքուր եղանակի մշակմանը, որն իրականացվում է առանց օրգանական լուծիչների և թանկարժեք կենսատեխնոլոգիական սարքավորումների կիրառման: Այս մոտեցումը զգալիորեն նվազեցնում է մեղանին ստանալու գործընթացի ծախսերը՝ դարձնելով այն կիրառելի ինչպես լաբորատոր, այնպես էլ արտադրական պայմաններում: Աշխատանքում հիմնավորված է, որ բուսական հումքից ստացված ջրալույծ մեղանինը, ինչպես և այլ մեղանիները, ցուցաբերում է հակաօքսիդանտային, հակամանրէային ակտիվություն, ծանր մետաղների իոնների կլանման ունակություն, ծխախոտի ծխի ազատ ռադիկալների նվազեցման ունակություն: Այն օժտված է նաև բույսերի աճի համար կենսախթանիչ հատկությամբ:

Աշխատանքի գիտական նորույթն ակնհայտ է նաև նրանում, որ առաջարկվող եղանակի շնորհիվ յուրացվում են բուսական թափոնները նպաստելով էկոլոգիական խնդիրների լուծմանը:

Աշխատանքի գործնական նշանակությունը: Ներկայացված աշխատանքի արդյունքներն լայն գործնական կիրառություն ունեն տարբեր ոլորտներում՝ բուսական հումքերից ջրալույծ մեղանիների ստացման համար առաջարկելով նորարարական, պարզ,

մատչելի և էկոլոգիապես մաքուր եղանակ: Ստացված մեխանիզմը դրսևորում է լայն կենսաբանական հատկություններ՝ հակաօքսիդանտային, հակամանրէային, ծանր մետաղների իոնների կլանման և կենսախթանիչ հատկություններ, ինչը հնարավորություն է տալիս այն կիրառել բազմաթիվ ոլորտներում: Մասնավորապես՝

1. Մշակված եղանակով բուսական հումքերից և դրանց թափոններից ստացված ջրալույծ մեխանիզմը, ի տարբերություն այլ մեթոդներով ստացված մեխանիզմների, չի պարունակում կողմնակի միացություններ, ինչի շնորհիվ այն կարող է անվտանգորեն կիրառվել բժշկության ոլորտում՝ տարբեր հիվանդությունների կանխարգելման և բուժման նպատակով:
2. Ծխախոտի արդյունաբերության մեջ ծխախոտի ֆիլտրերում ցածր կոնցենտրացիայով մեխանիզմի օգտագործումը կարող է նպաստել ծխախոտի ծխում ազատ ռադիկալների կրկնակի նվազեցմանը:
3. Բուսական հումքից ստացված մեխանիզմի էքստրակտը ցուցաբերում է կենսախթանիչ ազդեցություն՝ նպաստելով սերմերի ծլունակության բարձրացմանը, ծիլերի աճին, արմատային համակարգի զարգացմանը և բերքատվության ավելացմանը, ինչի շնորհիվ այն կարող է կիրառվել գյուղատնտեսությունում որպես բույսերի բնական աճի խթանիչ:
4. Բուսական հումքերից ստացված մեխանիզմը կարող է կիրառվել սննդարդյունաբերության ոլորտում՝ որպես բնական սննդային ներկանյութ, հատկապես հացաբուլկեղենի, ինչպես նաև ալկոհոլային և ոչ ալկոհոլային խմիչքների արտադրության մեջ:
5. Այն կարող է օգտագործվել պրոբիոտիկ կաթնաթթվային բակտերիաների արտադրությունում՝ որպես պաշտպանիչ միջոց մնացորդային հակաբիոտիկների ազդեցությունից:
6. Ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներից մաշկի և մազերի պաշտպանության նպատակով ստացված մեխանիզմը կարելի է օգտագործել տարբեր տեսակի քսուկների և կոսմետիկ միջոցների արտադրությունում:
7. Բուսական մեխանիզմը կարող է օգտագործվել նաև որպես բնական բիոկոնսերվանտ սննդարդյունաբերության ոլորտում:

Մշակված եղանակի մատչելիությունն ու պարզությունը թույլ են տալիս մեխանիզմի ստացման մշակված եղանակը ներդնել արտադրական տարբեր ոլորտներում:

Ատենախոսական աշխատանքի կապը գիտական թեմաների հետ: Աշխատանքը կատարվել է բազային ֆինանսավորմամբ թեմայի, ինչպես նաև ՀՀ ԿԳՄՍՆ Բարձրագույն կրթության և գիտության կոմիտեի գիտական և գիտատեխնիկական պայմանագրային (թեմատիկ) ֆինանսավորման 21T-2I137 և 25RG-3C118 դրամաշնորհների շրջանակներում:

Հրատարակված աշխատությունները: Ատենախոսության մեջ շարադրված հետազոտության արդյունքները հրապարակված են 7 գիտական աշխատանքներում՝ 5 հոդվածներ, որոնցից մեկը առանց համահեղինակների և 2 միջազգային գիտաժողովի թեզիս:

Աշխատանքի կառուցվածքը և ծավալը: Ատենախոսական աշխատանքը շարադրված է 127 էջի վրա, ներառում է 26 նկար, 20 աղյուսակ, 7 սխեմա:

Ատենախոսությունը կազմված է «Ներածություն», «Գրականության ակնարկ», «Հետազոտության նյութեր և մեթոդներ», «Արդյունքներ և քննարկում», «Ամփոփում», «Եզրակացություններ», «Գրականության ցանկ», «Հապավումների ցանկ» բաժիններից:

ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ԱՎՆԱՐԿ

Գլուխ 1-ում ներկայացված է մելանինների բնութագիրը, դասակարգումը և դրանց սինթեզը, մելանինների սինթեզը բույսերում: Նկարագրվել է մելանինների կենսաբանական հատկությունները և ներկայացվել է կիրառման ոլորտները: Մանրամասնորեն ներկայացված են բուսական հումքերից մելանինի ստացման եղանակները և դրա նույնականացման ժամանակակից մեթոդները:

ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹԵՐ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐ

Մելանինի անջատում և մաքրում: Որպես մելանինի անջատման աղբյուր օգտագործվել են տարբեր տեսակի բուսական հումքեր և թափոններ՝ խաղողի կեղև (ձեռք բերված Արմավիրի գինու գործարանից), բանանի կեղև, արևածաղկի սերմեր, սև թեյ (Greenfield սև թեյ), սուրճ (բրազիլական աղացած սուրճի արաբիկա և ռոբուստա տեսակների խառնուրդ), և չազա սունկ (*Inonotus obliquus*, որն աճում է կեչու վրա): Հումքերից մելանինի անջատումը իրականացվել է ալկալիի լուծույթով էքստրակցման եղանակով:

Մելանինի ջերմակայունության ստուգում: Մելանինի նմուշի ջերմակայունությունը ստուգելու համար 0.1 գ մելանինը 100, 120 և 150°C ջերմաստիճանում 2 ժամ պահելուց հետո ջերմամշակված նմուշները լուծվել են 0.1 մոլ/լ NaOH-ի լուծույթում և չափվել նմուշների ՈւՄ-տեսանելի կլանման սպեկտրները 200-700 նմ ալիքի երկարության տիրույթում «BIOLAB UV-Vis» սպեկտրոմետրով (Տորոնտո, Կանադա):

Իրականացվել է նաև անջատված մելանինի թերմոգրավիմետրիկ անալիզ Q-1500 Derivatograph (Հունգարիա) սարքի կիրառմամբ 5°C/րոպե տաքացման արագությամբ:

Մելանինի ՈւՄ-տեսանելի և ԻԿ սպեկտրաչափական անալիզ: Մելանինի կլանման սպեկտրը ՈւՄ-տեսանելի տիրույթում գրանցելու համար կիրառվել է «Biolab UV-Vis» (Տորոնտո, Կանադա) սպեկտրոմետրը: Մելանինի ինֆրակարմիր սպեկտրի գրանցումն իրականացվել է «SHIMADZU IRTracer-100» (Կյոտո, Ճապոնիա) սարքի միջոցով, որը աշխատում է KBr-ի պրիզմայի մեկ անդրադարձման կիրառմամբ: Մելանինի ԻԿ սպեկտրները գրանցվել է 4000-400սմ⁻¹ տիրույթում 4սմ⁻¹ թույլատրելի շեղումով:

Մելանինի գել ֆիլտրացիա և գել էլեկտրոֆորեզ (SDS-PAGE): Մելանինի նմուշի գել ֆիլտրացիան իրականացվել է Toyopearl 50 F աշտարակի միջոցով (1,5×85 սմ) (Toyo Soda, Ճապոնիա) լուծույթի անցաթողմամբ: Արդյունքների գնահատումը կատարվել է ՈւՄ սպեկտրոսկոպիայի միջոցով, ինչն ապացուցել է ֆրակցիաներում մելանինի առկայությունը: SDS-PAGE իրականացվել է ըստ Bio-Rad գիտափորձական

դիտարկումների պաշտոնական ուղեցույցի՝ 12.5% պոլիակրիլամիդ գելը 0.1% նատրիումի դոդեցիլ սուլֆատ-պոլիակրիլամիդի առկայությամբ և 8.9 pH-ում:

Մելանինի հիդրոլիզատի ամինաթթվային կազմի որոշում: Մելանինի հիդրոլիզի իրականացման համար 1 գ կրկնակի վերանստեցված ամորֆ մելանինի կշռազանգվածը լուծվել է 6 մլ HCl լուծույթի(6մոլ/լ) մեջ և պահվել 30 րոպե 120°C-ում ավտոկլավում: Այնուհետև հիդրոլիզատի pH-ը NaOH-լուծույթով հասցվել է մինչև 5, ու չեզոքացված լուծույթը ենթարկվել է ամինաթթվային անալիզի: Ամինաթթվային կազմի որոշումն իրականացվել է «SHIMADZU NEXERA X2 UHPLC» գերբարձր արդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆով (Ճապոնիա) ֆյուրեսցենտային դետեկտորի կիրառմամբ:

Նախքան ամինաթթուների բաժանումը և նույնականացումը հիդրոլիզված նմուշը նոսրացվել է 0.1 Ն HCl-ի լուծույթով և նոսրացված լուծույթը ենթարկվել է նախաաշտարակային դերիվատիզացիայի՝ օրտոֆտալդիալդեհիդ ռեագենտով նուկլեոֆիլ ագենտի միջավայրում (2-մերկապտոէթանոլ), Sil-30AC ավտոմատ ներարկման համակարգում՝ 15°C ջերմաստիճանային պայմաններում:

Բարձր արդյունավետության հեղուկային քրոմատոգրաֆիական (ԲԱՀՔ) եղանակով մելանինի որական անալիզ: ԲԱՀՔ եղանակով մելանինի նույնականացման մեթոդի մշակումն իրականացվել է «Waters Separations module 2695» (ԱՄՆ) հեղուկային քրոմատոգրաֆով՝ հետադարձ ֆազային քրոմատոգրաֆիական համակարգի օրինակով: Որպես քրոմատոգրաֆիական աշտարակ օգտագործվել է «Alltima C18, 5մկմ, 250 x 4.6 մմ»-ը: ԲԱՀՔ եղանակով մելանինի նույնականացման համար որպես էլյուենտ օգտագործելով ացետոնիտրիլ և դեիոնիզացված ջուր:

Մելանինի C, H, N, S տարրերի էլեմենտային կազմի որոշում: Էլեմենտային կազմի որոշումը իրականացվել է «EUROVECTOR EA3000» (Իտալիա) էլեմենտային անալիզատորի միջոցով: C, H, N, S տարրերի դետեկցումը կատարվել է կատարմետրիկ (TCD) դետեկտորով:

Լուծույթից մելանինի ծանր մետաղների իոններ կլանելու հատկության որոշում: Մելանինի ամոնիակային ձևի մետաղի իոններ կլանելու հատկության ուսումնասիրության համար օգտագործվել են $Pb(NO_3)_2$, $Ni(NO_3)_2$, $CdCl_2$ և $MnCl_2$ աղերը 300 մգ/մլ կոնցենտրացիաներով: Մելանինի լուծույթի սկզբնական pH -ը 7.3, $is\kappa$ կոնցենտրացիաները՝ 0.1մգ/մլ, 0.25մգ/մլ, 0.5մգ/մլ և 0.9մգ/մլ: Pb^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} և Ni^{2+} իոնների լուծույթների կոնցենտրացիաները որոշվել են ինդուկտիվ կապված պլազմայով օպտիկա-էմիսիոն սպեկտրաչափական եղանակով՝ «Agilent 5800 VDV ICP-OES» (ԱՄՆ) սարքավորման միջոցով:

Մելանինի հակաօքսիդանտային ակտիվության ուսումնասիրում: Մելանինի հակաօքսիդանտային ակտիվությունը որոշվել է 2,2-դիֆենիլ-1-պիկրիլիդիդրազիլ (ԴՖԴԸ) ռադիկալ չեզոքացնելու ակտիվությամբ: Հակաօքսիդանտային ակտիվության որոշման համար պատրաստվել է 0.1 մմոլ ԴՖԴԸ մեթանոլային լուծույթը և 5 տարբեր կոնցենտրացիաներով մելանինի լուծույթները՝ 0.0025մգ/մլ, 0.005մգ/մլ, 0.01մգ/մլ, 0.02մգ/մլ և 0.01մգ/մլ:

Մելանինի հակամանրէային և կենսապաշտպանիչ ակտիվության որոշում: Հակամանրէային ակտիվությունը որոշելու նպատակով որպես թեստ կուլտուրաներ

օգտագործվել են՝ *Bacillus subtilis* G17-89, *Salmonella typhimurium* G38, *Escherichia coli* *Candida* (*Kazachstania*) *bovina* 10118, *Candida gropengiesseri* 10228: Մելանինի կենսաապաշտպանիչ հատկության հետազոտության համար օգտագործվել են հետևալ կաթնաթթվային բակտերիաների (ԿԹԲ) շտամները՝ *Lactobacillus rhamnosus* 20-12, *Lactobacillus acidophilus* 1991, *Lactobacillus fermentum* 27-2, *Enterococcus faecium* KE-5:

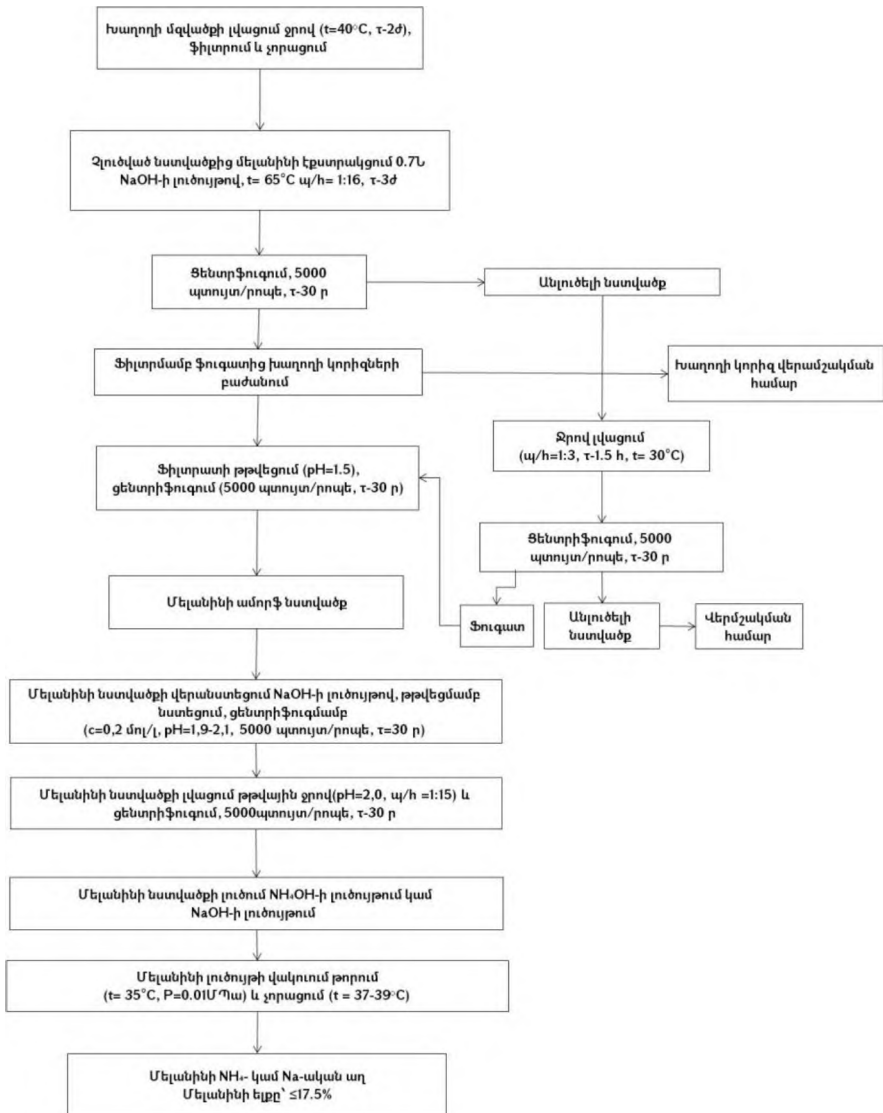
Մելանինի կենսախթանիչ հատկության որոշում: Որպես ուսումնասիրության օբյեկտ ընտրվել են Հայաստանի գյուղատնտեսության համար կարևոր նշանակություն ունեցող հացահատիկային բույսերից գարին և կերաբույսերից՝ առվույտը, սորգոն, եգիպտացորենը: Որոշվել են մելանինի լուծույթով նշված բույսերի սերմերը թրջելու օպտիմալ չափաբաժինը, տևողությունը, մշակման առավել արդյունավետ եղանակը:

ԳԼՈՒԽ 3. ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

Մելանինի անջատման տեխնոլոգիական սխեմա: Բուսական հումքերից և թափոններից ջրալույծ մելանինի անջատման և մաքրման տեխնոլոգիական սխեման ներկայացված է նկար 1-ում (խաղողի կեղևի օրինակով):

Ածխաջրերը և ջրում լուծվող այլ նյութերը հեռացնելու համար հումքը նախապես լվացվել է թթվեցված ջրով (pH-2.5)՝ պինդ և հեղուկ ֆազերի(ա/հ) (1:20) հաբերությամբ 40°C ջերմաստիճանում 120 րոպե տևողությամբ: Չլուծվող զանգվածը հեղուկից առանձնացվել է ֆիլտրմամբ: Չլուծվող զանգվածի թթվայնությունը իջացնելու համար մշակվել է ջրով 1:3 ա/հ հարաբերակցությամբ 90 րոպե 30°C-ում, որից հետո ֆլտրվել և չորացվել է: Մելանինի անջատումը իրականացվել է 0.7 Մ NaOH լուծույթով պինդ և հեղուկ ֆազերի 1:16 հարաբերակցությամբ 65°C-ում 2.5 ժամ տևողությամբ էքստրակցմամբ: Չլուծված զանգվածից էքստրակտի անջատումը իրականացվել է ցենտրիֆուգման եղանակով՝ 5000 պտույտ/րոպե, 20 րոպե: Ֆուգատից մելանինի անջատումն իրականացվել է HCl-ի լուծույթով pH-ն իջեցնելով մինչև 1.5, այնուհետև 25°C-ում 60 րոպե խառնելուց հետո առաջացած ամորֆ մելանինի նստվածքն անջատվել է ցենտրիֆուգմամբ՝ 5000 պտույտ/րոպե, 30 րոպեի պայմաններում: Ստացված ամորֆ մելանինի նստվածքը կողմնակի նյութերից մաքրելու համար նստվածքը ենթարկվել է կրկնակի վերանստեցման՝ այն լուծելով 0.2 Մ NaOH լուծույթում, 25°C ջերմաստիճանում ա/հ ֆազերի 1:12-ի հարաբերությամբ: Ստացված լուծույթից մելանինի անջատումն իրականացվել է լուծույթի թթվեցմամբ pH-ն աղաթթվով հասցնելով մինչև 2.5-ի և մելանինի նստվածքն անջատվել է ցենտրիֆուգմամբ 5000 պտույտ/րոպե 30 րոպեում: Քլոր իոնից և ջրալույծ այլ նյութերից ազատվելու համար մելանինի ամորֆ նստվածքը մշակվել է 1:15 հարաբերությամբ աղազրկված ջրով: Մելանինի ամորֆ նստվածքն անջատվել է ցենտրիֆուգմամբ՝ 5000 պտույտ/րոպե, 30 րոպեի ընթացքում և լվացվել աղազրկված ջրով: Մելանինի նմուշը լուծելի ձևի փոխակերպելու համար այն լուծվել է ամիակաջրով (1.2Մ կոնցենտրացիայով) 25°C ջերմաստիճանում և ենթարկվել վակուում գոլորշիացման 40°C-ում և 0.01 մՊա մնացորդային ճնշման տակ մինչև մածուցիկ վիճակ ստացում: Ստացված զանգվածը չորացվել է 38°C-ում: Մելանինի ամորֆ նստվածքը լուծվել է նաև ալկալու pH 9.0-9.5 լուծույթում ու նույն եղանակով չորացվել: Չորացման արդյունքում ստացվել է մետաղական փայլով մուգ շագանակագույն տեսքի

մելանինի ամորֆ նստվածք: Մշակված եղանակով բուսական հումքերից և թափոններից որոշակի փոփոխություններով մելանինի անջատում է իրականացվել նաև արևածաղկի սերմերից, սև թեյից, սուրճից, բանանի կեղևից և չափա սնկից, որոնց ելքը ներկայացված է աղյուսակ 1-ում:

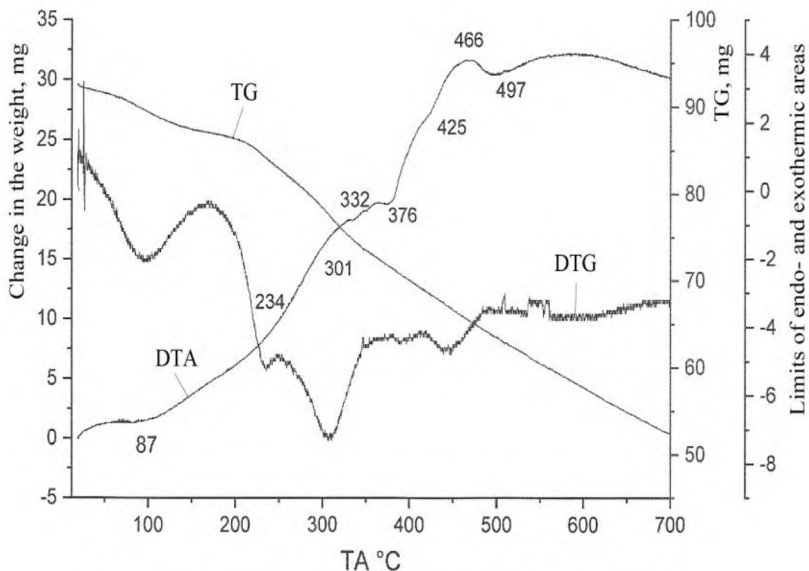


Նկար 1. Բուսական հումքերից և թափոններից ջրալույծ մելանինի անջատման և մաքրման տեխնոլոգիական սխեմա

Մեխանիկական տարրեր տեսակի բուսական հումքերից և թափոններից

Հումքի անվանում	Մեխանիկական տարրերից, %
Խաղողի կեղև	17.5±1.75
Արևածաղկի սերմեր	6.7±0.53
Սև թել	18.3±1.34
Սուրճ	13.2±0.91
Բանանի կեղև	7.5±0.51
Չափա սունկ	14.5±1.19

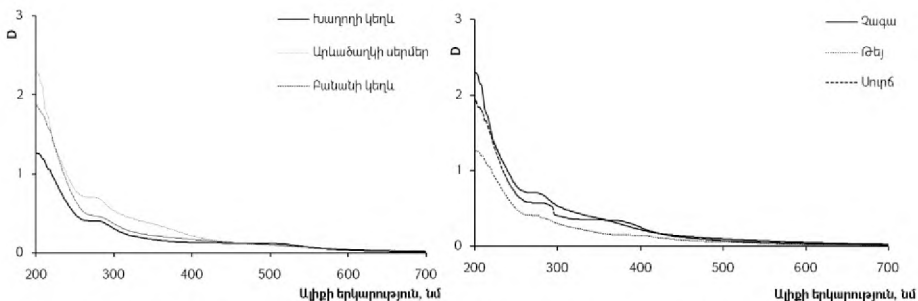
Մեխանիկական քերականություն: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ 100 և 120°C քերականություն քերականացված մեխանիկական նմուշներն ամբողջությամբ լուծվում են հիմնային լուծույթներում, ուստի մուգ շափառակազմի գույն և օպտիկական խտությամբ չեն տարբերվում իրարից: 150°C քերականություն քերականացված մեխանիկական նմուշը մոտավորապես 70%-ով լուծվում է ալկալի լուծույթում: Թերմոգրավիմետրիկ անալիզի տվյալները ցույց են տվել, որ մոտավորապես 80°C քերականություն սկսվում է մեխանիկական նմուշի քաշի աստիճանական նվազում: Մոտ 160°C-ից սկսած, քաշի փոփոխության կորի անկման թեքությունն ավելի կտրուկ է, որը շարունակվում է մինչև 320°C (նկար 2):



Նկար 2. Մեխանիկական քերականության անալիզի կոր

TG - քաշի փոփոխություն; DTG - քաշի դիֆերենցիալ քերականության փոփոխություն; DTA - դիֆերենցիալ քերականության փոփոխություն

Տարբեր բուսական հումքերից անջատված մելանինի նմուշների ՈւՄ-տեսանելի սպեկտրների վերլուծություն: Տարբեր հումքերից և թափոններից անջատված մելանինի նմուշների ՈւՄ-տեսանելի սպեկտրումնետրիան կատարվել է ջրային լուծույթներում: Ինչպես ցույց է տրված նկար 3-ում, մելանինի կլանման սպեկտրները 200-ից մինչև 700 նմ տիրույթում աստիճանական նվազում են:

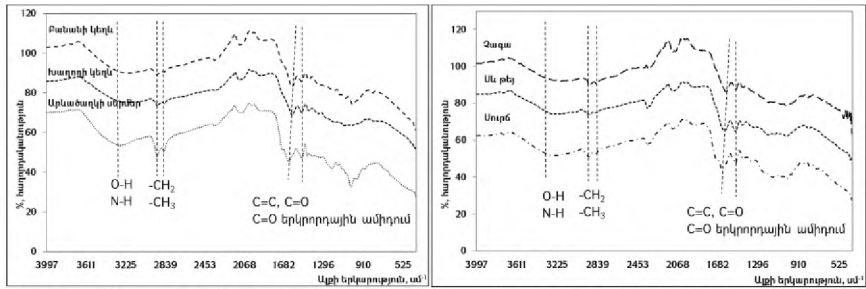


Նկար 3. Տարբեր հումքերից անջատված մելանինի լուծույթների կլանման սպեկտրներ

Մելանինի առավելագույն կլանումը նկատվում է 200 նմ ալիքի երկարության տիրույթում: 260–280 նմ ալիքի տիրույթում սպեկտրում նկատվում է կլանման փոքր պիկ, որն ըստ երևույթին պայմանավորված է պիգմենտի մոլեկուլում արոմատիկ ամինաթթուների կամ սպիտակուցի առկայությամբ: Մելանինի նմուշների կարևոր հատկանիշ է համարվում նաև լուգարիթմական կլանման թեքությունն ալիքի երկարության նկատմամբ: Խաղողի կեղևից, արևածաղկի սերմերից, բանանի կեղևից, չափա սնկից, թեյից և սուրճից անջատված մելանինի կլանման սպեկտրի թեքության անկյան տանգենտը գտնվում է $[-0.0033]$ – $[-0.040]$ սահմանում:

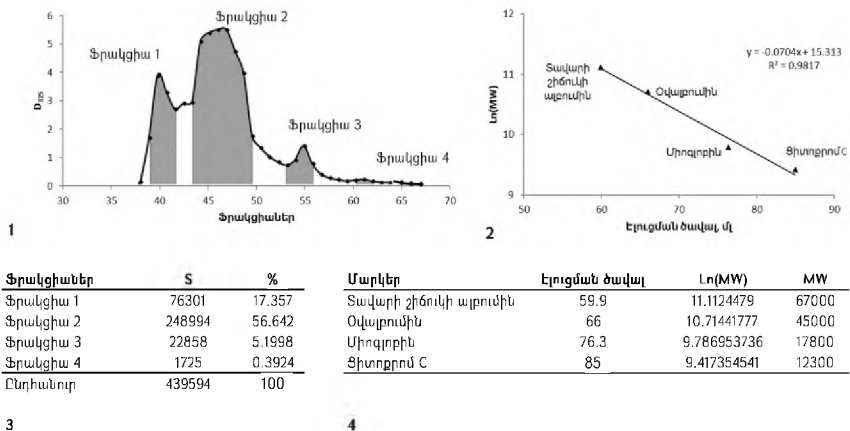
Տարբեր բուսական հումքերից և թափոններից անջատված մելանինի ԻԿ սպեկտրների բնութագրում: Տարբեր բուսական հումքերից և թափոններից անջատված մելանինի ԻԿ-սպեկտրների (նկար 4) վերլուծությունը ցույց է տվել սպեկտրներում առկա կլանման շերտեր, որոնք հանդիսանում են բնութագրական մելանինների նույնականացման համար:

3300 սմ⁻¹ շերտի տատանման մարզը պայմանավորված է OH- և NH- խմբերի վալենտային տատանմամբ, 2920 և 2850 սմ⁻¹ շերտերը համապատասխանում են ալիֆատիկ -CH₂ և -CH₃ խմբերի տատանմանը, բնութագրական 1610 սմ⁻¹ կլանումը համապատասխանում է վալենտային զուգորդված կրկնակի կապերին՝ C=C, C=O և C=O երկրորդային ամիդում, 1520-1450 սմ⁻¹ շերտում C=O կապը առկա է ֆենոլների մոտ, իսկ եթերների մոտ 1200-1300 սմ⁻¹ տիրույթում գտնվում է C-O-C խմբերի տատանումը: Կատարված ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ տարբեր տիպի բուսական հումքերից և թափոններից ստացված մելանինների ԻԿ սպեկտրները իրենց տատանման մարզերով նույնանման են:



Նկար 4. Տարբեր բուսական հումքերից անջատված մեխանիկների ԻԿ սպեկտրներ

Մեխանիկի գել ֆիլտրացիա և SDS – PAG էլեկտրոֆորեզ: Խաղողի կեղևից ստացված մեխանիկի նմուշը ենթարկվել է անալիզի գել-ֆիլտրման եղանակով (Տայոպերալ 50 F աշտարակով լուծույթի բացթողմամբ): Փորձերի տվյալները ցույց են տվել, որ խաղողի կեղևից ստացված մեխանիկի նմուշում պարունակվում են տարբեր մոլեկուլային կշիռ ունեցող 4 ֆրակցիաներ: Նկար 5 - ում ներկայացված է մեխանիկում պարունակվող գել-ֆիլտրման եղանակով ստացված ֆրակցիաների մոլեկուլային կշիռները:



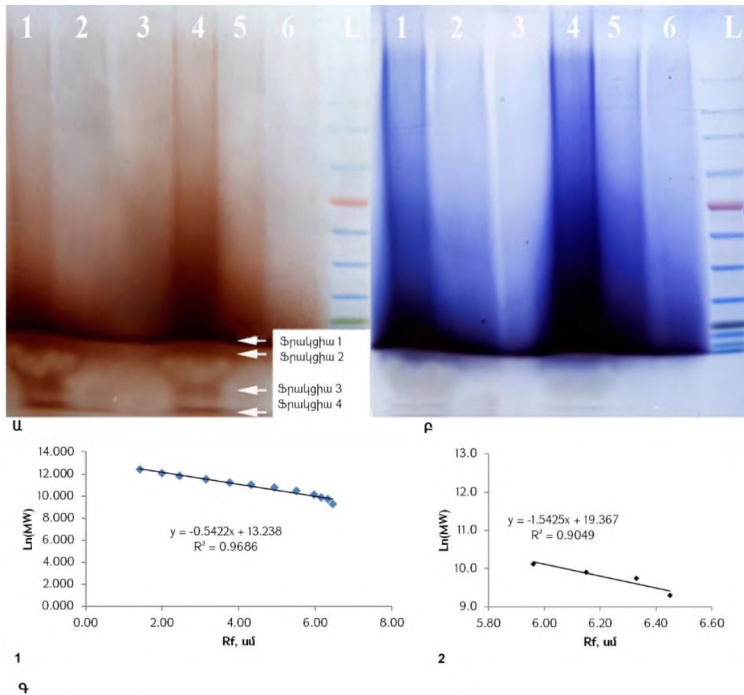
Ֆրակցիաներ	S	%
Ֆրակցիա 1	76301	17.357
Ֆրակցիա 2	248994	56.642
Ֆրակցիա 3	22858	5.1998
Ֆրակցիա 4	1725	0.3924
Ընդհանուր	439594	100

Մարկեր	Էլուցման ծավալ	ln(MW)	MW
Տալարի շիճուկի ալբոմին	59.9	11.1124479	67000
Օվալբոմին	66	10.71441777	45000
Միոգլոբին	76.3	9.786953736	17800
Ցիտոքրոմ C	85	9.417354541	12300

Նկար 5. Խաղողի կեղևից անջատված մեխանիկի գել-ֆիլտրացիա

1 – մեխանիկի ֆրակցիաների քրոմատագրման օրինակ, 2 – Toyopearl 50 F աշտարակի կալիբրման կորը, 3 – մեխանիկի քանակական բաշխումը ֆրակցիաներում, գնահատում ըստ J ծրագրի, 4 – սպիտակուցների էլուցման ծավալային և մոլեկուլային կշիռների աղյուսակ, որն օգտագործվում է աշտարակի կալիբրման համար

Ինչպես գել ֆիլտրացիայի եղանակով, այնպես էլ SDS – PAG էլեկտրաֆորեզի եղանակով պարզվել է, որ խաղողի կեղևից անջատված մեխանիկի նմուշում առկա են չորս ֆրակցիաներ (նկար 6):



Նկար 6. Մեկանիների ամոնիակային ձևի SDS-PAGE գրադիենտային էլեկտրոֆորեզ

Ա – Գելի կեսը առանց գունավորման (տարբեր մոլեկուլային զանգվածներով մեկանիների ֆրակցիաները նշված են սպիտակ սլաքներով), Բ – Գելային սալիկի մյուս կեսը ներկված Coomassie brilliant blue R-250-ով, Գ – Մոլեկուլային կշռի գնահատման համար կալիբրման կորեր՝ համապատասխան գծայնության բանաձևերով և անկման գործակիցներով (1 – օգտագործվել են սանդղակի սպիտակուցների բոլոր 12 տվյալները, 2 – օգտագործվել են միայն սանդղակի վերջին 4 տվյալները): 1-, 2- և 3- հետքերը պարունակում էին 40, 20 և 10 մգ NH_4 ձևով մեկանիների նմուշներ

Երկու եղանակով պարզվել է, որ խաղողի կեղևից ստացված մեկանիների նմուշում պարունակվում են տարբեր մոլեկուլային կշիռ ունեցող 4 ֆրակցիաներ, որոնք ունեն մեկանիներին բնութագրական բոլոր որակական ռեակցիաները:

Տարբեր հումքերից և թափոններից անջատված մեկանիների հիդրոլիզատի ամինաթթվային կազմ: Տարբեր հումքերից և թափոններից անջատված մեկանիների նմուշների հիդրոլիզատում որոշվել են սպիտակուցի ամինաթթուների կազմը և քանակը: Մեկանիների հետ կապված սպիտակուցի մոլեկուլում հայտաբերվել է 13 ամինաթթուներ: Ի տարբերություն չափա սնկից ստացված մեկանիների թթվային հիդրոլիզատի, մնացած բուսական հումքերից և թափոններից ստացված մեկանիների հիդրոլիզատներում ամինաթթվային կազմը մոտավորապես միանման են: Ստացված տվյալների հիման վրա որոշվել է մեկանիների նմուշներում սպիտակուցի պարունակությունը (բացի չափայի), որը կազմել է 3.3-ից – 9.75%:

Մելանինի ԲԱՀՔ անալիզ: Խաղողի կեղևից անջատված մելանինի լուծույթն անալիզի է ենթարկվել ԲԱՀՔ եղանակով: ԲԱՀՔ-ի միջոցով մելանինի նմուշում իրականացվել է 4 տարբեր ֆրակցիաների բաժանում: Բացի 4 ֆրակցիաներից այլ նյութերի առկայություն չի հայտնաբերվել, ինչ հաստատում է կողմնակի խառնուրդների բացակայությունը:

Խաղողի կեղևից և սև թելից անջատված **մելանինի էլեմենտային կազմում** (աղյուսակ 2) առկան են ածխածին, ջրածին և ազոտ: Նմուշների էլեմենտային կազմի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ դրանց կառուցվածքում ծծումբ չի պարունակվում: Չնայած այն հանգամանքին, որ ալոմելանինների ելային հումքերը ազոտ չեն պարունակում, ազոտի առկայությունը նմուշներում, ըստ երևույթին, պայմանավարված է մելանինում սպիտակուցի առկայությամբ:

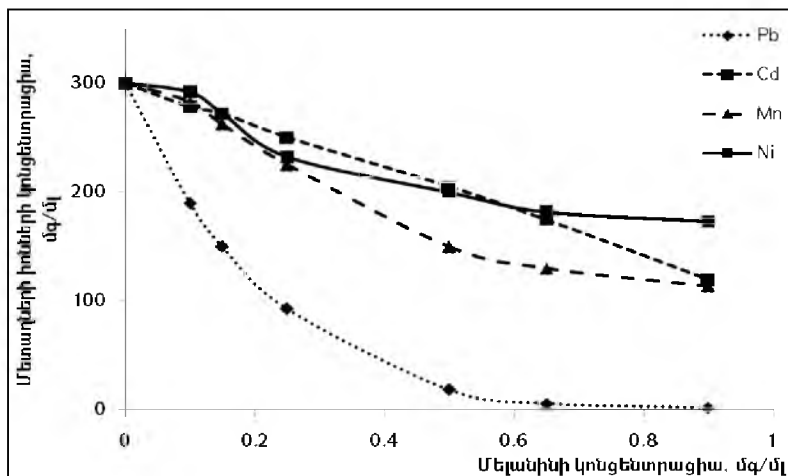
Աղյուսակ 2

Խաղողի կեղևի և սև թելի մելանինի նմուշների տարրային կազմ

Մելանինի աղբյուր	Մելանինի էլեմենտային կազմը, %		
	C	N	H
Խաղողի կեղև	63.32±5.41	4.86±0.26	6.75±0.31
Սև թել	54.21±3.25	3.21±0.29	3.81±0.24

Խաղողի կեղևից անջատված մելանինի մետաղ կլանելու հատկություն:

Ստատիկ պայմաններում ուսումնասիրվել է խաղողի կեղևից անջատված մելանինի ծանր մետաղների իոնների կլանման գործընթացը: Ինչպես երևում է նկար 7-ից, մելանինի կոնցենտրացիայի աճին զուգընթաց (0.1-0.5 մգ/մլ միջակայքում) նկատվում է լուծույթում առկա իոնների կոնցենտրացիայի սահուն նվազում:



Նկար 7. Մետաղական իոնների կլանումը խաղողի կեղևից անջատված մելանինի ջրային լուծույթում (pH 7.3)

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ 1 մգ մելանինը կլանում է 0.34 մգ Pb^{2+} -ի իոնների, 0.20 մգ Mn^{2+} -ի իոնների, 0.14 մգ Ni^{2+} -ի և 0.20 մգ Cd^{2+} -ի իոններ առանձին վերցված: Մելանինի կողմից ծանր մետաղի իոններ կլանելու այս հատկությունը կարևոր նշանակություն ունի տարբեր ոլորտներում դրա կիրառման համար:

Քուսական հումքերից և թափոններից անջատված մելանինի հակաօքսիդանտային ակտիվություն: Տարբեր տեսակի քուսական հումքերից և թափոններից անջատված մելանինի ազատ ռադիկալները չեզոքացնելու կարողությունը գնահատելու համար կիրառվել է ԴՖՊՀ-ի վրա հիմնված մեթոդը: Հետազոտության օբյեկտ հանդիսացող բույսերից անջատված մելանինի լուծույթների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը համեմատվել է վիտամին C-ի ակտիվության հետ, որը հայտնի է որպես ուժեղ հակաօքսիդանտ: Ստացված մելանինի նմուշների լուծույթների համար որոշվել է մելանինի լուծույթով ազատ ռադիկալների չեզոքացնելու ակտիվությունը (աղյուսակ 3):

Փորձերի արդյունքները ցույց են տվել, որ խաղողի կեղևից անջատված մելանինը ի տարբերություն մյուս քուսական հումքերից անջատված մելանինների ցուցաբերում է ամենաբարձր հակաօքսիդանտային ակտիվությունը: 0.1 մՄ ԴՖՊՀ-ի 50% չեզոքացման համար ծախսվել է 5.8 մգ/լ խաղողի կեղևից անջատված մելանին, իսկ մյուս քուսական հումքերից անջատված մելանինի դեպքում այդ արժեքը կազել է 27.2 - 99.0 մգ/լ: Համեմատության համար նշենք, որ արմավենու պտուղներից անջատված մելանինի ազատ ռադիկալներ չեզոքացնելու ակտիվությունը (IC_{50}) կազմել է 63.6 – 75.1 մգ/լ միջակայքում [Alam *et al.*, 2022] :

Աղյուսակ 3

Տարբեր տեսակի հումքերից անջատված մելանինի ԴՖՊՀ ազատ ռադիկալ չեզոքացնելու հատկություն(*0.1մՄ ԴՖՊՀ-ի 50 % չեզոքացնելու հատկությունը)

Նմուշներ	Հակաօքսիդանտային ակտիվություն* (IC_{50} , մգ/լ)
Վիտամին C	3.5±0.13
Խաղողի կեղև	5.8±0.35
Արևածաղկի սերմեր	99.0±1.27
Սև թեյ	27.8±1.55
Սուրճ	25.5±2.01
Չազա սունկ	27.2±1.93

Մելանինի ծխախոտի ծխից ազատ ռադիկալները կլանելու հատկություն:

Հաշվի առնելով այն, որ խաղողի կեղևից անջատված մելանինը ի տարբերություն քուսական մյուս հումքերից անջատված մելանինների ցուցաբերել է ամենաբարձր հակաօքսիդանտային ակտիվությունը, հետազոտություններ են իրականացվել այդ մելանինի օգտագործմամբ ծխախոտի ծխի վնասակար ազդեցությունը նվազեցնելու ուսումնասիրման ուղղությամբ: Ազատ ռադիկալների կլանման գործընթացը իրականացվել է ծխախոտի ֆիլտրի մեջ տարբեր եղանակներով մելանինի

տեղադրմամբ: Փորձի ժամանակ ծխախոտի ծուխը վակուումով ներծծվել է ԴՖՊՀ-ի մեթանոլային լուծույթով լցված սրվակի մեջ: Ստուգիչի դեպքում (ծխախոտը մելանին չի պարունակել) 0.1 մՄ ԴՖՊՀ ալկոհոլային լուծույթի օպտիկական խտությունը 517 նմ ալիքի երկարության ժամանակ, իջնում է 1.369-ից մինչև 0.821 (1սմ օպտիկական ուղու երկարությամբ), իսկ մելանինով լիցքավորված ծխախոտի դեպքում (ծխախոտի ֆիլտրին ավելացվել է 10 մգ խաղողից անջատված մելանին), նույն ցուցանիշն իջել է մինչև 0.318 նիշը:

Մելանինի հակամանրէային ակտիվության ուսումնասիրություն: Մելանինի հակամանրէային ակտիվությունը ուսումնասիրվել է *in vitro* հեղուկ միջավայրում՝ սերիական նոսրացման եղանակով: Հետազոտության արդյունքներն ամփոփված են աղյուսակ 4-ում:

Աղյուսակ 4

Խաղողի կեղևից անջատված մելանինի ազդեցությունը տարբեր թեստ միկրոօրգանիզմների հանդեպ կախված ժամանակից

Թեստ միկրոօրգանիզմ	Մելանին (մգ/մլ)	Ինկուբացիոն ժամանակ/բջջիների քանակ, ԳՍՄ/մլ	
		24ժ	48ժ
<i>B. subtilis</i> G17-89	0(Ստուգիչ)	3.2×10^8	2.3×10^{10}
	20	8.0×10^6	0.8×10^7
	40	4.2×10^1	5.0×10^1
<i>S. typhimurium</i> G38	0(Ստուգիչ)	1.6×10^9	1.6×10^{10}
	20	1.0×10^7	1.0×10^8
	40	3.0×10^6	3.2×10^7
<i>E. coli</i> K12	0(Ստուգիչ)	1.4×10^9	8.0×10^{10}
	20	1.0×10^7	1.0×10^8
	40	2.8×10^7	1.0×10^7
<i>Candida bovina</i> 10118	0(Ստուգիչ)	1.3×10^9	4.5×10^8
	20	2.5×10^7	0
	40	1.3×10^5	0
<i>Candida gropengiesseri</i> 10228	0(Ստուգիչ)	1.2×10^9	1×10^8
	20	7.0×10^6	3×10^2
	40	1.8×10^2	0

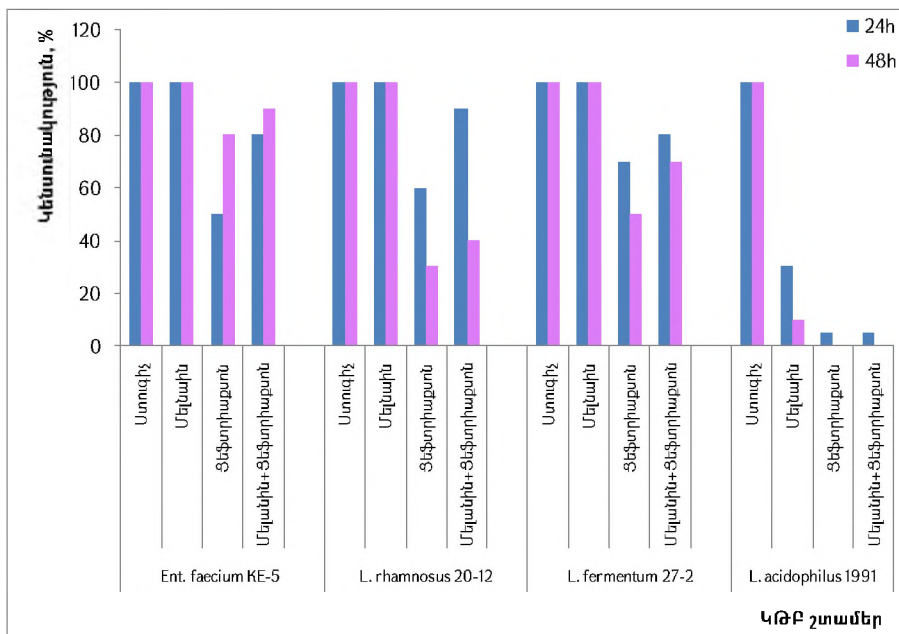
Ստացված արդյունքները ցույց են տվել, որ մելանինի հակամանրէային ակտիվությունը կախված է մելանինի կոնցենտրացիայից և փոխազդեցության տևողությունից: Մելանինի կոնցենտրացիայի բարձրացումը բերում է փորձարկված կուլտուրաների աճի նվազում: *Salminella typhimurium* G 38 և *Escherichia. coli* K12 մանրէների աճը նվազում է մինչև 3 աստիճան, իսկ *Bacilus subtilis*-ի դեպքում աճի կտրուկ նվազում է նկատվում: *Candida (Kazakhstania) bovina* 10118 շտամի աճը

մելանինով երկու փորձարկված կոնցենտրացիաներում 48 ժամ տևողությամբ ինկուբացիայից հետո ամբողջությամբ արգելակվում է՝ ցուցաբերելով բակտերիոցիդ ազդեցություն: *Candida gropengiesseri* 10228 շտամի դեպքում մելանինի ցածր կոնցենտրացիան նվազեցնում է կուլտուրայի աճը 80%-ով, այսինքն ցուցաբերում է բակտերիոստատիկ ազդեցություն:

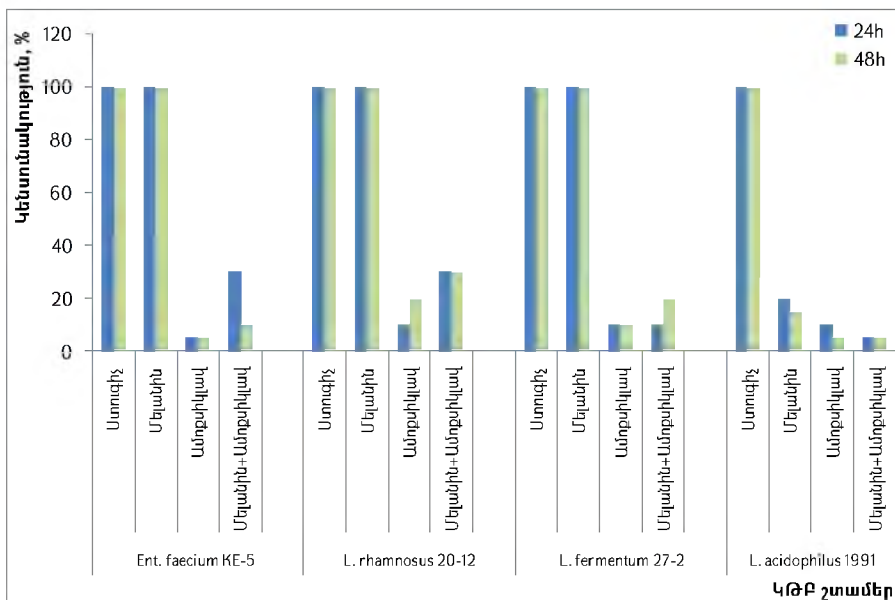
Մելանինի կենսաապաշտպանիչ ակտիվության ուսումնասիրություն:

Ուսումնասիրվել է մելանինը որպես հակաբիոտիկների մնացորդային քանակները հնարավոր կապող միջոց: Հետազոտվել են հաճախ կիրառվող ցեֆտրիաքսոն և ամոքսիկլավ հակաբիոտիկները, իսկ պրոբիոտիկներից 4 կաթնաթթվային բակտերիաներ՝ *Lactobacillus rhamnosus* 20-12, *Enterococcus faecium* KE-5, *Lactobacillus acidophilus* 1991, *Lactobacillus fermentum* 27-2: Մելանինն ավելի բարձր կենսաապաշտպանիչ ազդեցություն է դրսևորվել *Ent. faecium* KE-5 և *L. rhamnosus* 20-12 ԿԹԲ-երի նկատմամբ, իսկ *L. acidophilus* 1991-ը բարձր զգայունություն է դրսևորում ինչպես հակաբիոտիկի, այնպես էլ մելանինի նշված կոնցենտրացիայի հանդեպ: Մելանինը *L. fermentum* 27-2-ի նկատմամբ զգալի ազդեցություն չի ունեցել:

Ցեֆտրիաքսոնի և ամոքսիկլավի նկատմամբ 4 տարբեր ԿԹԲ-ների վրա մելանինի կենսաապաշտպանիչ ազդեցության արդյունքները ներկայացված են նկար 8 և 9-ում:



Նկար 8. Մելանինի կենսաապաշտպանիչ ակտիվությունը ցեֆտրիաքսոնի նկատմամբ



Նկար 9. Մեյանինի կենսապաշտպանիչ ակտիվությունը անոքսիկավի նկատմամբ

Մեյանինի կենսախթանիչ հատկության ուսումնասիրություն: Որպես ուսումնասիրության օբյեկտ ընտրվել են Հայաստանի գյուղատնտեսության համար կարևոր նշանակություն ունեցող հացահատիկային բույսերից գարու և կերաբույսերից՝ առվույտի, սորգոյի, եգիպտացորենի սերմերը: Որոշվել են մեյանինի լուծույթով թրջելու օպտիմալ չափաբաժինը, տևողությունը, մշակման առավել արդյունավետ եղանակը: Մշակված բույսերն ավելի արագ են աճել, ճյուղավորվել, կոկոնակալվել և ծաղկել: Ուսումնասիրված բոլոր բույսերն իրենց մորֆոլոգիական ցուցանիշներով գերազանցել են ստուգիչին: Այսպիսով խաղողի կեղևից անջատված մեյանինը կարելի է առաջարկել որպես պոտենցիալ արդյունավետ կենսախթանիչ նյութ բույսերի աճի և զարգացման համար:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Առաջին անգամ մշակվել է առանց օրգանական լուծիչների և բարդ կենսատեխնոլոգիական սարքավորումների կիրառմամբ բուսական հումքերից և դրանց արտադրական թափոններից ջրալույծ մեյանինի ստացման (եղք՝ 6.7-17.5%) մատչելի և ունիվերսալ եղանակ:
2. Վերլուծական եղանակների՝ ԻԿ և ՈւՄ տեսանելի սպեկտրասկոպիա, ԲԱՀՔ, էլեմենտային և ամինաթթվային անալիզի կիրառմամբ հաստատվել է մեյանիններին բնորոշ ֆունկցիոնալ խմբերի առկայությունը (խսկության և մաքրության հաստատման համար): Ցույց է տրվել, որ սպիտակուցի պարունակությունը մեյանինի նմուշներում կազմում է 3.3-ից – 9.75%:

3. Հաստատվել է, որ բուսական հումքից ստացված մելանինն օժտված է հակաօքսիդանտային ($IC_{50} = 3.2-99.0$ մգ/լ), հակառադիկալային, հակամանրէային (*Bacillus subtilis*, *Candida bovina*, *Candida gropengesei* շտամների տիտրը 48 ժամ անց նվազել է 100%-ով), կենսապաշտպանիչ (30-50 % ստուգիչի համեմատ) հատկություններով:
4. Ցույց է տրվել, որ բուսական հումքից ստացված մելանինն օժտված է ծանր մետաղների իոնների կլանման հատկությամբ (1մգ մելանինը կլանում է 0.34 մգ Pb^{2+} -ի, 0.2մգ Cd^{2+} -ի, 0.2 մգ Mn^{2+} -ի և 0.14 մգ Ni^{2+} -ի իոններ առանձին վերցված):
5. Ծխախոտի ֆիլտրում բուսական հումքից ստացված ջրալույծ մելանինի ներդրմամբ ցույց է տրվել, որ այն օժտված է ծխախոտի ծխից ազատ ռադիկալների քանակի նվազեցման ունակությամբ (մինչև 2 անգամ):
6. Բուսական հումքից ստացված ջրալույծ մելանինը կայուն է մինչև $\leq 120^{\circ}C$ ջերմաստիճանում և pH-ի լայն (>4) տիրույթում:
7. Մշակվել է արտադրական թափոններից ջրալույծ մելանինի էքստրակտի ստացման արդյունավետ եղանակ: Ստացված մելանինը ցուցաբերում է բույսերի աճը և զարգացումը խթանող հատկություն:

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅԱՆ ԹԵՄԱՅՈՎ ՀՐԱՏԱՐԱԿՎԱԾ ԱՇԽԱՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՑԱՆԿ

1. Aghajanyan A., Minasyan E., Soghomonyan T., Melyan G., Hovhannisyan G., Yeghiyan K., Karapetyan K., Tsaturyan A., **2025**. Isolation, purification, identification of melanin from grape pomace extracts, and its application areas. *Bioactive Compounds in Health and Disease*; 8(5): 204 - 216. <https://www.doi.org/10.31989/bchd.8i5.1609>
2. **Minasyan, E.V., 2024**. Bio-protective activity of grape melanin in relation to antibiotics. *Proceedings of the YSU B: Chemical and Biological Sciences*, 58(2 (264)), pp.151-158. <https://doi.org/10.46991/PYSU:B.2024.58.2.151>
3. Aghajanyan, A.E., Hambardzumyan, A.A., **Minasyan, E.V.**, Hovhannisyan, G.J., Yeghiyan, K.I., Soghomonyan, T.M., Avetisyan, S.V., Sakanyan, V.A. and Tsaturyan, A.H., **2024**. Efficient isolation and characterization of functional melanin from various plant sources. *International Journal of Food Science & Technology*, 59(6), pp.3545-3555. <https://doi.org/10.1111/ijfs.17016>
4. **Minasyan, E.**, Aghajanyan, A., Karapetyan, K., Khachaturyan, N., Hovhannisyan, G., Yeghiyan, K. and Tsaturyan, A., **2024**. Antimicrobial activity of melanin isolated from wine waste. *Indian Journal of Microbiology*, 64(4), pp. 528-1534. <https://doi.org/10.1007/s12088-023-01155-9>
5. Aghajanyan, A.E., Hambardzumyan, A.A., **Minasyan, E.V.**, Tsaturyan, A.H., Paloyan, A.M., Avetisyan, S.V., Hovsepyan, A.S. and Saghyan, A.S., **2022**. Development of the technology for producing water-soluble melanin from waste of winery production and

the study of its physicochemical properties. *European Food Research and Technology*, 248(2), pp.485-495. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03894-9>

6. Aghajanyan A.Ye., Hambardzumyan A.A., **Minasyan E.V.**, Hovhannisyan G.Zh., Eghyan K.I., Tsaturyan A.H., “Development of a method for the isolation of water-soluble melanin from plant raw material”, International Scientific and Practical Conference “Biotechnology: Science and Practice, Innovation and Business” October 20-22, **2021**, Yerevan, Armenia, Book of Abstracts p. 8.
7. **Minasyan E.**, Karapetyan K., Aghajanyan A., Tsaturyan A., “Antibacterial activity of melanin isolated from wine waste”. International Scientific and Practical Conference “Biotechnology: Science and Practice, Innovation and Business” October 20-22, **2021**, Yerevan, Armenia, Book of Abstracts p. 54.

MINASYAN ELA VARDAN

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE EXTRACTION OF MELANIN FROM PLANT RAW MATERIALS AND INVESTIGATION OF ITS PROPERTIES

SUMMARY

Keywords: melanin, plant raw materials, water-soluble melanin, physicochemical characterization, antioxidant activity, antimicrobial properties, heavy metal adsorption, agricultural applications

This dissertation is dedicated to the development of a simple, efficient, and environmentally friendly method for extracting water-soluble melanin from various plant raw materials and their industrial waste products, including black grape skins, sunflower seeds, black tea, coffee, banana peels, and chaga mushroom. The developed technological scheme involves alkaline extraction, acid precipitation, multi-stage purification, ammonium hydroxide treatment, and low-temperature drying that ensures the production of water-soluble melanin and preservation of its biological activity.

The yield of melanin varied between 6.7% and 17.5% depending on the raw material source, demonstrating competitiveness with or surpassing existing literature data. The obtained melanin samples were subjected to extensive physicochemical characterization by UV-Vis and IR spectroscopy, SDS-PAGE electrophoresis, gel filtration, HPLC and elemental analysis, as well as thermal and pH stability assays. These analyses confirmed the presence of characteristic

functional groups, molecular weight distribution of various fractions, and demonstrated high thermal and pH stability (stable up to 120 °C and across pH $\geq$ 4).

The study revealed that melanin from grape skins demonstrated the highest antioxidant activity (IC_{50} = 5.8 mg/L) comparable to that of vitamin C and radical scavenging capacity among melanins obtained from other sources. The data obtained showed that 1 mg of melanin from grape skins separately absorbed 0.34 mg of Pb^{2+} , 0.17 mg of Cd^{2+} , 0.15 mg of Cu^{2+} , 0.13 mg of Zn^{2+} , 0.12 mg of Fe^{3+} , and 0.10 mg of Mn^{2+} . This property of melanin indicates its potential as a bioadsorbent for environmental removal of certain toxic metals. Additionally, *in vitro* antimicrobial tests demonstrated complete inhibition of *Bacillus subtilis*, *Candida bovina*, and *Candida gropengiesseri*, as well as significant suppression of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* growth.

Further biological studies showed the protective effect of melanin on probiotic bacteria against the damaging effects of antibiotics. Agricultural experiments demonstrated that melanin treatment accelerated seed germination and root system development in wheat, barley, sorghum, and maize, leading to increased crop yields, supporting its potential use as a natural growth stimulator.

Overall, the developed method efficiently utilizes local natural resources and food industry waste to produce high-yield, multifunctional melanin with applications across medicine, pharmaceuticals, cosmetology, agriculture, and food industry. The physicochemical and biological properties of the melanin obtained are closely aligned with those of tea melanin reported in the literature, which supports further exploring grape-derived melanin for medical applications.

МИНАСЯН ЭЛА ВАРДАНОВНА

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ МЕЛАНИНА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО СВОЙСТВ

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: меланин, растительное сырьё, водорастворимый меланин, физико-химическая характеристика, антиоксидантная активность, антимикробные свойства, адсорбция тяжёлых металлов, сельскохозяйственное применение

В данной диссертационной работе представлена разработка простого, эффективного и экологически чистого метода получения водорастворимого меланина из различных растительных материалов и их производственных отходов, включая кожуру черного винограда, семена подсолнечника, черный чай, кофе, кожуру банана и гриб чага. Разработанная технологическая схема включает щелочную экстракцию, кислотное

осаждение, многоступенчатую очистку, обработку гидроксидом аммония и низкотемпературную сушку, что обеспечивает получение водорастворимого меланина и сохранение его биологической активности.

Выход меланина варьировался от 6.7% до 17.5% в зависимости от сырья, что конкурентоспособно или превосходит известные литературные данные. Полученные образцы меланина подвергались комплексной физико-химической характеристике с использованием УФ-Вид и ИК спектроскопии, электрофореза SDS-PAGE, гелевой фильтрации, ВЭЖХ и элементного анализа, а также тестам на термическую и pH-стабильность.

Анализы подтвердили наличие характерных функциональных групп, распределение молекулярных масс различных фракций и высокую термо- и pH-стабильность (устойчивость до 120 °C и в диапазоне pH ≥ 4).

Исследование выявили, что меланин из кожуры винограда продемонстрировал наивысшую антиоксидантную активность ($IC_{50} = 5,8$ мг/л) и захват радикалов среди меланинов, полученных из других источников.

Установлено, что меланин проявляет адсорбционное свойство по поглощению ионов тяжелых металлов. Полученные данные показали, что 1 мг меланина из виноградной кожуры в отдельности поглощает 0.34 мг Pb^{2+} , 0.17 мг Cd^{2+} , 0.15 мг Cu^{2+} , 0.13 мг Zn^{2+} , 0.12 мг Fe^{3+} и 0.10 мг Mn^{2+} . Это свойство меланина указывает на его потенциал как биоадсорбента для экологической очистки от некоторых токсичных металлов.

In vitro антимикробные испытания показали полное ингибирование роста *Bacillus subtilis*, *Candida bovina* и *Candida gropengiesseri*, а также значительное подавление роста культур *Salmonella typhimurium* и *Escherichia coli*.

Дальнейшие исследования продемонстрировали защитное действие меланина на пробиотические бактерии от повреждающего влияния антибиотиков. Сельскохозяйственные опыты показали, что обработка меланином ускоряет прорастание семян и развитие корневой системы у пшеницы, ячменя, сорго и кукурузы, повышая урожайность, что свидетельствует о его потенциале как натурального стимулятора роста.

В целом, разработанный метод обеспечивает эффективное использование местных природных ресурсов и пищевых отходов для получения меланина с высоким выходом и многофункциональным применением в медицине, фармацевтике, косметологии, сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Физико-химические и биологические свойства полученного меланина близки к характеристикам меланина из чая, что подтверждает целесообразность дальнейшего изучения виноградного меланина для медицинских целей.