DOI: 10.17117/na.2015.11.04.212

Поступила (Received): 21.11.2015

<http://ucom.ru/doc/na.2015.11.04.212.pdf>

Макарова Е.Л., Петракова И.В. Сорбционные свойства альгината натрия

Makarova E.L., Petrakova I.V.
The sorption properties of sodium alginate

Нами была проведена сорбционная иммобилизация глюкоамилазы на альгинате натрия, выделенном из бурых водорослей. Были изучены оптимальные условия для наиболее эффективной иммобилизации глюкоамилазы на углеводных носителях. Оптимальная сорбционная иммобилизация глюкоамилазы на альгинате натрия осуществляется при 50 °C и pH 4,5

Ключевые слова: глюкоамилаза, активность, альгинат натрия

Макарова Екатерина Леонидовна

Кандидат биологических наук, ассистент
Воронежский государственный медицинский
университет им. Н.Н. Бурденко
г. Воронеж, ул. Студенческая, 10

Петракова Ирина Владимировна

Биолог
Воронежская областная клиническая больница №1
г. Воронеж, Московский проспект, 151

Нами была проведена сорбционная иммобилизация глюкоамилазы на альгинате натрия, выделенном из бурых водорослей. Были изучены оптимальные условия для наиболее эффективной иммобилизации глюкоамилазы на углеводных носителях. Оптимальная сорбционная иммобилизация глюкоамилазы на альгинате натрия осуществляется при 50 °C и pH 4,5

Key words: *glukoamylase, activation, sodium alginate*

Makarova Ekaterina Leonidovna

Candidate of Biological Sciences, Assistant
Voronezh state medical university named N.N.
Burdenko
Voronezh, Studencheskaya st., 10

Petrakova Irina Vladimirovna

Biologist
Voronezh regional clinical hospital №1
Voronezh, Moskovsky ave., 151

Альгиновая кислота и ее соли главным образом встречаются в морских бурых водорослях. Ее количество весьма вариabельно и зависит от места, глубины, вида водоросли, ее возраста и времени года. Альгинаты кальция обладают способностью образовывать гели, поэтому они используются для иммобилизации ферментов, клеток и органелл путем включения.

Опыт клинического применения альгинатных покрытий на раны и ожоги показал, что они обладают хорошими дренирующими свойствами, ускоряют очищение ран, снижают их инфицированность, заметно снижают отек окружающих тканей, обладают выраженным кровоостанавливающим действием, способствуют благоприятному течению раневого процесса. Не менее эффективными являются мази, кремы и гели на основе альгинатов. Альгинатные покрытия оказались эффективными в стоматологической практике при лечении пародонтоза и других заболеваний полости рта.

Химически альгинаты представляют собой полисахаридные полимеры из остатков β -D-маннуровой и α -L-гулуруновой кислот, соединенных между собой. Обнаружено, что молодые водоросли содержат больше полиманнуровой кислоты, а зрелые – полигулуруновую. Причем пластичность водорослей зависит от полиманнуровой, а жесткость – от полигулуруновой.

Звенья гулуруновой и маннуровой кислот связываются в основном 1,4-гликозидными связями с небольшими разветвлениями. В карбоксильных группах водород замещен на натрий. Соотношение маннуровая:гулуруновая кислота меняется в зависимости от вида водорослей от 1; 1,04 до 1:1,9. Соотношение полимерных цепей и определяет свойства альгината.

Глюкоамилаза (α -1,4:1,6 глюкан-4,6-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.3) присутствует в организме человека и животных, высших и низших растений, в культурах микроскопических грибов, бактериях, катализирует реакцию гидролиза крахмала до глюкозы, атакуя только внешние нередуцирующие концы цепей полисахаридов, и широко используется в разработке новых прогрессивных технологий.

Развитие медицинской энзимологии способствовало более широкому применению ферментативных препаратов в качестве терапевтических средств и при проведении клинических анализов, а также для диагностики различных заболеваний. Ферменты – это относительно лабильные полипептидные соединения природного происхождения, их применение затруднено из-за неустойчивости при хранении и температурных воздействиях. Кроме того многократное применение ферментов практически невозможно в связи с технологическими трудностями их отделения от продуктов реакции. В последние годы иммобилизация ферментов на подходящих носителях открыла новые возможности для использования их в практических целях. Ряд работ посвящен разработке биотехнологии получения и исследования свойств биodeградируемых пленок на основе природных полимерных материалов [1, С. 22].

В зависимости от конечной цели применения ферментного препарата можно улучшить его физико-химические свойства за счет правильного подбора носителя. Среди природных полимерных носителей применяются полисахаридные соединения. Их достоинством являются присутствие разных функциональных групп, доступность, а также ряд углеводных полимеров используется в клинической практике как БАВ или БАД, то есть носители могут оказывать благоприятное воздействие на организм.

Так же, как и большинство биополисахаридов, альгиновая кислота, выделяемая из морских водорослей, используется в клинической практике для лечения болезней желудочно-кишечного тракта. Альгинат образует гели с высокой степенью гидратации, высокой прочности, но относительно мягкой консистенции, что делает гидродинамические свойства геля близкими по своим характеристикам к природным тканям и позволяет легко биodeградировать в физиологических условиях. Уникальные свойства альгината делают его одним из основных носителей для доставки лекарств в организме.

Поэтому нами была проведена сорбционная иммобилизация глюкоамилазы на альгинате натрия, выделенном из бурых водорослей (фирмы

Fluka). Объектом исследования служил коммерческий препарат глюкоамилазы (КФ 3.2.1.3.) из *Aspergillus awamori*; который подвергали очистке от низкомолекулярных примесей с помощью гель-хроматографии на сефадексе G-25). В качестве субстрата использовали растворимый картофельный крахмал фирмы «Экрос». Альгинат – основной структурный полисахарид бурых морских водорослей – состоит из регулярных последовательностей, связанных между собой в положениях 1, 4 остатков β -D- маннопиранозилуроната и α - L- гулопиранозилуроната [2, С. 58].

5 г носителя оставляли при комнатной температуре в 25,6 мл ацетатного буфера (рН 4,5). 5 мл раствора фермента (10^{-5} моль/л) добавляли к суспензии носителя и перемешивали в колбе с помощью электрической мешалки в течение 1,5 часов при температуре 25 °С. Далее центрифугировали при 3000 об/мин 5 мин, осадок промывали ацетатным буфером (рН 4,5), затем дистиллированной водой до отсутствия в промывных водах белка (контроль осуществляли на СФ-26 при $\lambda=280$ нм). Содержание белка в иммобилизованном ферменте определяли модифицированным методом Лоури, а активность – глюкозооксидазным методом с помощью наборов стандартных реагентов «Оксохром ГЛЮКОЗА С» фирмы Lachema (Чехия).

Были изучены оптимальные условия для наиболее эффективной иммобилизации глюкоамилазы на углеводных носителях. Результаты экспериментов показали, что через 1,5 часа количество сорбированной глюкоамилазы составило 15 мг/г носителя. Оптимальная сорбционная иммобилизация глюкоамилазы на альгинате натрия осуществляется при 50 °С и рН 4,5.

Список используемых источников:

1. Андрусенко С.Ф. Биodeградируемые полимерные материалы // III ежегодная научная конференция студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН. 2007. С. 21-22.
2. Вудворд Д. Иммобилизованные клетки и ферменты. М.: Мир, 1998. 215 с.