

Волосова Елена Владимировна

канд. биол. наук, доцент

ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный

аграрный университет»

г. Ставрополь, Ставропольский край

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ПРИРОДНЫХ БИОПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛАХ

Аннотация: в статье рассмотрены методы спектрофотометрического определения удельной активности иммобилизованного фермента трипсина в биодegradируемых полимерных пленочных материалах на основе природного полисахарида.

Ключевые слова: иммобилизация, ферменты, биодegradируемые полимеры, спектрофотометрия.

Методы химической иммобилизации ферментов в настоящее время являются доминирующим способом получения гетеробиокатализаторов. В основу синтеза материалов, обладающих способностью к биоразложению, положен принцип разрушения межмолекулярных и внутримолекулярных связей в естественных условиях среды [1, с. 24–31].

В связи с этим нами использованы композиции, содержащие в качестве основы возобновляемый природный биоматериал полисахарид – метилцеллюлозу. Для получения пластичной пленки в композиции вводили глицерин как пластификатор. В качестве дополнительных компонентов, для придания твердости, использовали природный белковый комплекс желатина.

Анализ химических и физических свойств полученных пленок предполагал исследование спектров поглощения в УФ – области, предела прочности, влагоемкости. Данные характеристики могут позволить расширить область применения синтезированных биопленок.

Для получения данных о спектрах поглощения в УФ – области измеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-46 согласно методике О. Warburg и W. Christian сравнением поглощения белков при 280 и 260 нм [2, с. 22–23].

Для иммобилизации фермента трипсина в структуру пленочного материала была разработана следующая методика. Готовили раствор метилцеллюлозы в концентрации 2–3% в воде. Для исключения образования пузырьков воздуха в растворе его выдерживали не более 15 часов при температуре не менее 10°C. В полученный коллоидный гель метилцеллюлозы, вводили желатин в виде водного раствора с концентрацией 3%, раствор фермента в воде в виде его раствора объемом 1 мл – 10 мг кристаллического трипсина в 100 мл 0,005 М раствора HCl, глицерин и перемешивали до гомогенного состояния.

Пленки формовали методом свободного растекания на гладкую стеклянную поверхность желаемой формы толщиной с испарением растворителя в течение 1,5–2 суток при температуре 20 ÷ 24 °C.

Для анализа использовали пять экспериментальных серий препарата иммобилизованного фермента трипсина. Для образцов полученных пленочных материалов были проанализированы спектры поглощения в УФ – области Данные представлены на рисунке [3].

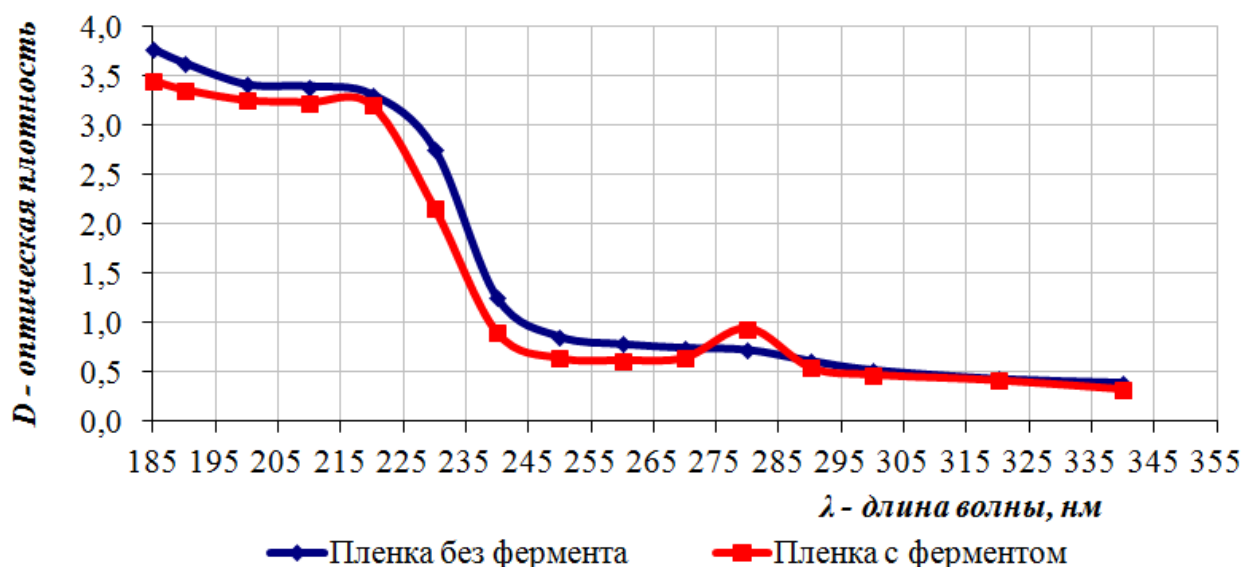


Рис. 1. Влияние содержания фермента трипсина на оптические свойства пленки на основе МЦ, желатина, глицерина

Данные сравнительного анализа спектров поглощения в УФ – области разработанных и традиционных пленочных материалов свидетельствуют о повышении барьера поглощения, что может быть связано с повышением плотности упаковки в аморфных областях МЦ за счет модификации структуры молекулами глицерина и желатина. Модификация МЦ молекулами желатина может осуществляться путем ковалентного связывания боковых аминокислотных остатков полипептидных цепей последнего с функциональными группами МЦ.

Список литературы

1. Юданова Т.Н. Современные раневые покрытия: получение и свойства. II. Раневые покрытия с иммобилизованными протеолитическими ферментами (обзор) / Т.Н. Юданова, И.В. Решетов // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40. – №8. – С. 24–31.
2. Дарбре А. Практическая химия белка; пер. с англ. – М.: Мир, 1989.
3. Волосова Е.В. Стабилизация биологически активных соединений методом включения их в структуру природных биоразлагаемых полимерных материалов: Дис. канд. биол. наук. – Ставрополь, 2011. – С. 134.