

## ПОЛУЧЕНИЕ КОЛЛАГЕНОЛИТИЧЕСКОГО ФЕРМЕНТА И ЕГО АКТИВИЗАЦИЯ УЛЬТРАДИСПЕРСНОЙ ГУМАТО-САПРОПЕЛЕВОЙ СУСПЕНЗИЕЙ

Захарова А. В.<sup>1</sup>, Баракова Н.В.,<sup>1</sup> Митюков А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт озерадения Российской академии наук

**Научный руководитель** – кандидат технических наук, доцент Шамцян М.М. (Санкт-Петербургский государственный технологический институт)

**Введение.** В настоящее время биообъекты являются перспективными источниками продукции в научно-техническом прогрессе. В качестве биообъектов обычно используются микроорганизмы ввиду их высокой скорости роста и накопления биомассы. Одним из наиболее перспективных объектов изучения являются высшие грибы – базидиомицеты *Basidiomycetes*. Среди базидиомицетов было найдено множество продуцентов самых разнообразных соединений: ферментов, антибиотиков, витаминов, полисахаридов, липидов [1] и т.д.

**Основная часть.** Коллагенолитический фермент (коллагеназа) – это специфическая протеаза, разрушающий пептидные связи в природном коллагене, превращая посредством гидролиза нерастворимый коллаген в растворимую форму. Одной из основных областей применения коллагеназ является медицинская промышленность, например, известен препарат коллагеназы камчатского краба – Морикраза, используемый для лечения ожогов и удаления рубцов [2]. В основе механизма лечебного действия коллагеназ лежит способность преобразовывать нативный нерастворимый коллаген в растворимую форму путем гидролиза пептидных связей. Истинная коллагеназа, в частности микробная и животного происхождения (класс металлопротеаз), расщепляют тройную спираль коллагена в одной конкретной точке, образуя крупные растворимые фрагменты, дальнейшее разрушение которых протекает сравнительно медленно [2].

При практическом использовании фермента целесообразно говорить о его рациональном использовании, то есть меньшим количеством фермента получать желаемый результат. Активизируя работу коллагенолитического фермента, повышается степень гидролиза коллагена. Степень гидролиза – увеличение количества низкомолекулярных пептидов, полученных в результате гидролиза высокомолекулярного коллагена.

Существуют разные способы активации ферментов. Например, применение ионов металлов или гуминовых веществ [3].

Источником гуминовых веществ являются торф, бурые угли, сапропели и неживая материя почвенных и водных систем. В НИИ Озерадения РАН разработан способ получения ультрадисперсных гумато-сапропелевых экстрактов (УДГСС), в состав которых входят гуминовые кислоты, фульвовые кислоты, гуматы. УДГСС получают путем щелочной экстракции сапропеля под действием ультразвукового излучения частотой 35 кГц и давлением 2 Вт/см<sup>2</sup> при температуре 40 °С [4].

Исследуемым объектом являлся коллагенолитический фермент – коллагеназа. Продуцентом коллагенолитического фермента служила глубинная культура *Coprinus lagopides*. Глубинное культивирование высшего гриба *C. lagopides* проведено на в предварительно простерилизуемой при Ризб 0,1 МПа в течение 1 ч. углеродно-азотной среде (при соотношении 15:1) в качалочных колбах Эрленмейера объемом 0,75 дм<sup>3</sup> на роторной качалке (230 об/мин) при температуре 28 - 30 °С в течение 7 суток.

Для определения коллагенолитической активности нативного раствора культуральной жидкости гриба был использован нингидриновый метод [5]. Метод измерения коллагеназной активности основан на способности фермента расщеплять коллаген с освобождением и переводом в раствор продуктов гидролиза, концентрацию которых определяют спектрофотометрически.

Анализ работы показал, что применение УДГСС в дозе 0,01 см<sup>3</sup> при рН 4,5 способствовало достоверному увеличению коллагенолитической активности относительно контроля на 28%. Применение УДГСС с рН 7,0 в любых дозировках УДГСС не способствовало увеличению коллагенолитической активности фермента.

**Выводы.** Результаты, полученные в ходе проведенных экспериментов, показывают перспективность использования УДГСС в качестве активатора коллагенолитической активности фермента.

#### **Список использованной литературы**

1. Денисова, Н.П. Лечебные свойства грибов: Этномикологический очерк / Н. П. Денисова. – СПб.: СПбГМУ, 1998. – 60 с.
2. Майорова, А.В, Б.Б. Сысуев, Ю.О. Иванкова, И.А. Ханалиева. Коллагеназа в медицинской практике: современные средства на основе коллагеназы и перспективы их совершенствования // Фармация и фармакология. – 2019. №7(5). – С.260–270.
3. Нсенгумуремый, Д. Применение ультрадисперсных гуматосапропелевых суспензий в технологии этилового спирта из ячменя: автореф. дис. Канд.техн.наук: 05.18.07/ Нсенгумуремый, Д. – СПб., 2020. – 252 с.
4. Шарова Н.Ю., Митюков А.С., Баракова Н.В., Нсенгумуремый Д. Антимикробное действие ультрадисперсных гумато-сапропелевых суспензий // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств – 2019. - № 3(41). – С. 25-31
5. Rosen, H. A. Modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. J. – Archives of Biochemistry and Biophysics. 1957. V. 67, pp. 10–15.

Захарова А.В. (автор)      Подпись

Шамцян М.М. (научный руководитель)      Подпись