

9. Способ получения индивидуальных флаволигнанов: патент Республики Беларусь № 20016 / А.С. Чубарова, В.П. Курченко; заявитель УО «Белорусский государственный университет». – Дата регистрации 28.12.2015.

10. Чубарова, А.С. Характеристика процесса комплексообразования гепатопротекторными флаволигнанами ионов меди (II), цинка (II), магния (II), кобальта (II) и свинца (II) / А.С. Чубарова, М.А. Капустин, В.П. Курченко // Труды Белорусского государственного университета. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». – 2016. – Т. 11, ч. 2. – С. 236–247.

НАДМОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА ЦЕЛЛЮЛОЗЫ РАСТИТЕЛЬНОГО И БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Чухчин Д.Г., Новожилов Е.В., Болотова К.С., Тышкунова И.В., Малков А.В., Майер Л.В., Гурьянова А.А.

Северный Арктический федеральный университет им. М.В. Ломоносова,
Архангельск

В статье представлены исследования структуры микрофибрилл целлюлозы. Проведен сравнительный анализ дисперсности и степени кристалличности надмолекулярных структур целлюлозы растительного и бактериального происхождения.

Биологическая конверсия целлюлозной биомассы в топливо, кормовые и пищевые продукты и химические вещества рассматривается в настоящее время как одна из ключевых отраслей биотехнологии. Это связано с необходимостью строить энергетику, химическую и микробиологическую промышленность на основе не ископаемого, обусловленного прогрессирующим дефицитом, а возобновляемого сырья [1]. Ключевым фактором, определяющим возможность переработки целлюлозы, является ее надмолекулярная структура. Процессы синтеза целлюлозы и формирования ее надмолекулярной структуры являются недостаточно изученными.

Синтез целлюлозы проходит внутри клеточной стенки растений, что является большим препятствием на пути изучения данного процесса. Рассмотреть процесс синтеза целлюлозы можно на более простом примере – синтезе целлюлозы, культивируемой бактериями рода *Acetobacter*. Обоснованием для такого выбора служит аналогия модификации кристаллической структуры целлюлозы I для растительной и бактериальной целлюлоз. Целлюлоза растений сосредоточена в микрофибриллах клеточной стенки. Различные слои стенки отличаются ориентацией микрофибрилл и хорошо различимы на микрофотографиях клеточной стенки можжевельника (рисунок 1, а). Несмотря на различную ориентацию, поперечные размеры

микрофибрилл во всех слоях клеточной стенки различных растений практически одинаковы.

В первичной стенке Р доля целлюлозы мала, и ее микрофибриллы образуют беспорядочную сетку. На радиальном сколе образца древесины ели (рисунок 1, б) показаны микрофибриллы в местах образования пор при формировании структуры волокна. Укладка микрофибрилл не имеет четкой ориентации, их поперечный размер составляет в среднем 30 нм. На фотографии тангенциального скола древесины березы (рисунок 1, в) изображен наружный слой S_1 , в котором наблюдается спиральная ориентация микрофибрилл. Угол наклона микрофибрилл к оси волокна составляет для волокон либриформа и трахеид $50...70^\circ$. Для сравнения с древесными породами показан слой S_2 на радиальном сколе в структуре соломы пшеницы (рисунок 1, г).

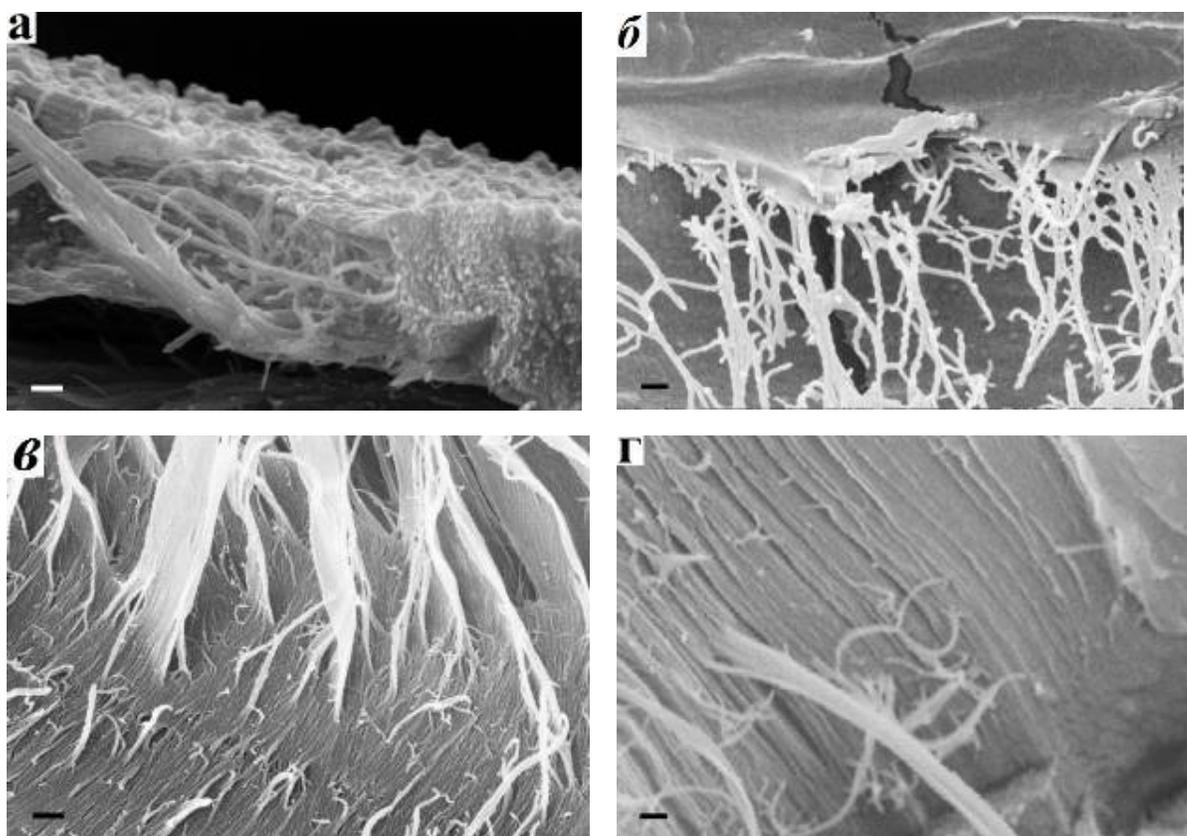


Рисунок 1 – Микрофибриллы целлюлозы растительного происхождения: а – скол клеточной стенки можжевельника; б – микрофибриллы слоя Р клеточной стенки ели; в – скол слоя S_1 клеточной стенки березы; г – скол слоя S_2 клеточной стенки соломы пшеницы (масштабная линейка: а, б, г – 200 нм, в – 100 нм)

Травянистые однолетние растения также имеют аналогичную локализацию слоев вторичной стенки, при которой внутренний слой S_2 отличается высокой степенью ориентации микрофибрилл. Поперечный

размер микрофибрилл травянистых растений идентичен размеру микрофибрилл древесных пород.

Бактериальная целлюлоза (БЦ) не содержит примесей гемицеллюлоз и лигнина, обладает более упорядоченной структурой, чем другие виды природных целлюлоз. При синтезе БЦ в качестве продуцента использовали симбиотическую популяцию живых микроорганизмов, представляющую собой смешанную культуру уксуснокислых бактерий *Acetobacter* с дрожжами. Культивирование клеток проводили на синтетическом глюкозном субстрате. Нарращивание биомассы и культивирование продуцентов целлюлозы проводили с использованием термостата Environmental Shaker-Incubator ES-20 BioSan. Моделирование температуры и влажности среды обеспечивали в климатической камере Binder KBWF.

На рисунке 2 а-г представлены клетки *A. xylinum*, синтезирующие целлюлозные микрофибриллы.

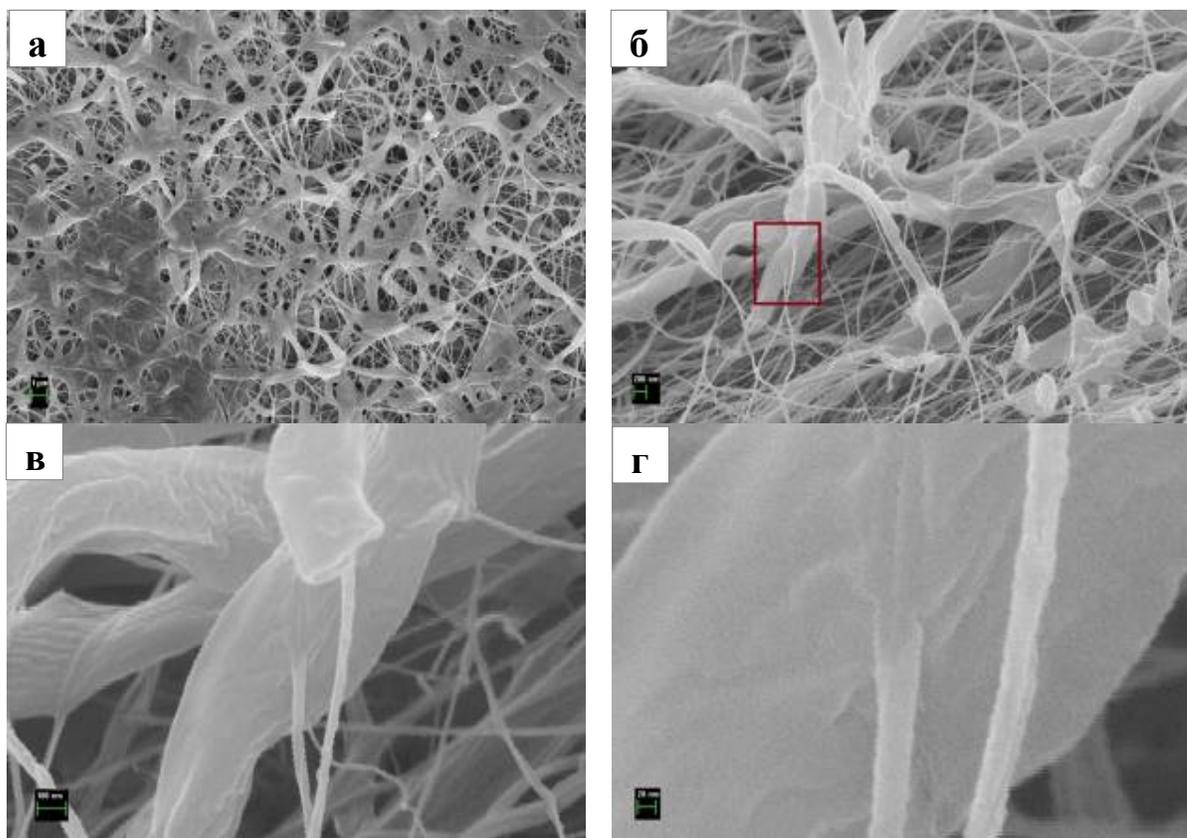


Рисунок 2 – Клетка *A. xylinum*, синтезирующая целлюлозные микрофибриллы, SEM Sigma VP ZEISS (масштабная линейка: а – 1 мкм; б – 200 нм; в – 100 нм; г - 20 нм)

Изображения на рисунке 2, в и г, позволяют сделать предположение, что ферменты, формирующие микрофибриллы целлюлозы, находятся примерно в 100 нм от точки синтеза кристаллической структуры. Таким образом, синтезирующие целлюлозные микрофибриллы ферменты не являются мембранными белками. Пучки микрофибрилл непосредственно

контактируют с клеточной оболочкой и остаются ассоциированными с клеткой.

Среднее значение толщины микрофибрилл целлюлозы слоя S_2 древесины можжевельника обыкновенного составляет около 30 нм (рисунок 3). В отличие от растительной целлюлозы (РЦ), распределение микрофибрилл БЦ имеет два пика на гистограмме в диапазонах 25...35 и 45...50 нм, кривая распределения носит бимодальный характер. Пик в диапазоне 45...50 нм отвечает поперечным размерам «сдвоенных» микрофибрилл. Бимодальный характер кривой указывает на способность микрофибрилл к параллельной укладке и парной самоорганизации. Учитывая статистически близкое распределение размеров микрофибрилл целлюлозы растительного и бактериального происхождения, а также аналогичное кристаллическое строение образцов, можно предположить наличие идентичных этапов биосинтеза слоя S_2 в растениях и бактериальной целлюлозе.

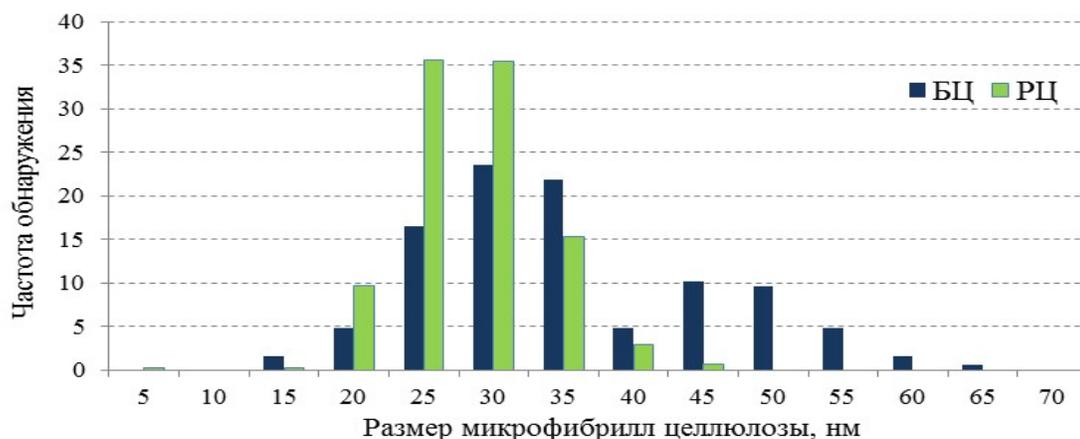


Рисунок 3 – Распределение по размеру микрофибрилл целлюлозы слоя S_2 древесины можжевельника обыкновенного (РЦ) и бактериальной целлюлозы (БЦ)

БЦ обладает высоко упорядоченной структурой и может служить эталоном для сравнительного анализа степени кристалличности различных образцов целлюлозы. Для удаления низкомолекулярных примесей БЦ гомогенизировали и обрабатывали диоксидом хлора в течение 2 ч. Образец БЦ промывали, замораживали и лиофильно высушивали на установке FreeZone (Labconco, США). Образцы микрокристаллической целлюлозы (МКЦ) получали из БЦ кипячением ее в 2,5 н HCl в течение 2,5...8 ч. Пробы отмывали от кислоты до нейтральной реакции и лиофильно высушивали. Оценку размера и формы микрокристаллитов МКЦ проводили методом электронной микроскопии на микроскопе SEM Sigma VP ZEISS. Для записи дифрактограмм использовали рентгеновский дифрактометр XRD-7000S (Shimadzu, Япония). Диапазон сканирования по углу 2Θ : 10...70°, скорость

сканирования 0,5 град/мин, шаг 0,02°. Степень кристалличности БЦ рассчитывали по новому методу [3], позволяющему с высокой точностью определять кристалличность веществ и их смесей, исключая различные субъективные факторы.

Степень кристалличности МКЦ бактериального происхождения имеет максимальное значение после гидролиза БЦ в течение 4 ч (рисунок 4).

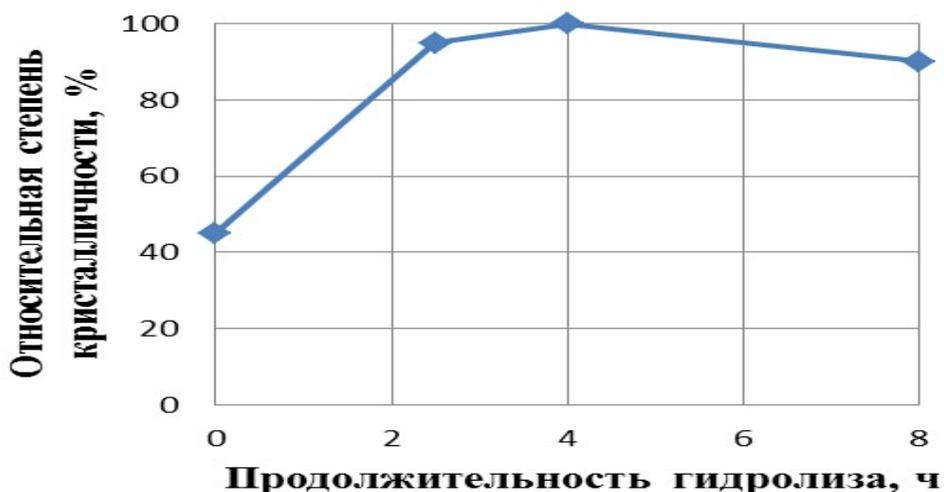


Рисунок 4 – Зависимость степени кристалличности МКЦ бактериального происхождения от продолжительности кислотного гидролиза БЦ

Значение этого показателя выше в 2 раза, чем у исходного образца БЦ. Степень кристалличности целлюлозосодержащих материалов относительно МКЦ из БЦ составляет для древесины ели – 35,7 %, для сульфатной хвойной беленой целлюлозы - 41,7 %, для МКЦ из хлопка – 72,7 %.

Обнаружены топохимические отличия образцов БЦ и растительной (хлопковой) целлюлозы после их кислотного гидролиза (рисунок 5).

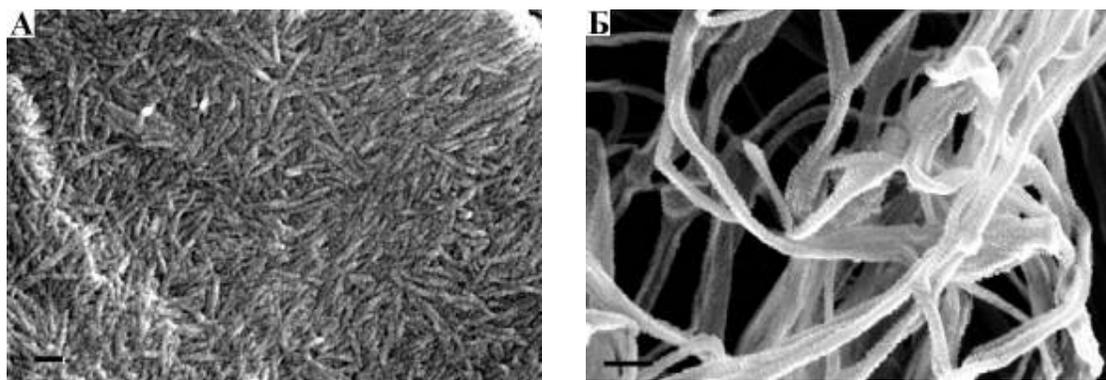


Рисунок 5 – Образцы микрокристаллической целлюлозы: а – МКЦ из хлопковой целлюлозы, б – МКЦ из бактериальной целлюлозы. Масштабная линейка 100 нм

В микрофибриллах хлопковой целлюлозы регулярно чередуются аморфные и кристаллические участки. После гидролиза аморфных участков

остаются веретенообразные кристаллиты длиной 200-300 нм (рисунок 5а). При гидролизе БЦ микрофибриллы уменьшаются в диаметре без укорочения (рис. 5б), то есть аморфные участки микрофибрилл БЦ расположены только на их поверхности.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО “Арктика” (САФУ им. М.В. Ломоносова).

Список литературы:

1. Сеницын, А.П. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов [Текст] / А.П. Сеницын, А.В. Гусаков, В.М. Черноглазов: учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.
2. Colvin J.R. The Mechanism of Formation of Cellulose-Like Microfibrils in a Cell-Free System from *Acetobacter xylinum* // *Planta*. – 1980. – Vol. 149. – No. 2. – P. 97–107.
3. Чухчин Д.Г., Малков А.В., Тышкунова И.В., Майер Л.В., Новожилов Е.В. Способ дифрактометрического определения степени кристалличности веществ // *Кристаллография*. – 2016. – № 3. – С. 375-379.

КРИОФАРМАКОЛОГИЯ: ПРОДУКТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Шабунин С.В., Востроилова Г.А.

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, г. Воронеж, svshabunin@rambler.ru

Статья посвящена новому направлению в ветеринарной фармакологии – криофармакологии, предмет изучения которой являются субстанции и лекарственные формы, полученные методом криофракционирования биологических тканей. Показан широкий спектр биологической активности тканевых препаратов на примере криофракционирования свиной плаценты. Установлено, что данные препараты не обладают тератогенным, канцерогенным, аллергенным, иммунотоксическим действием, не проявляют мутагенную активность.

В последние годы в ветеринарной фармакологии наметилась тенденция к созданию и использованию препаратов, изготовленных из природного сырья, поскольку многие из них обладают разносторонней биологической активностью и, в то же время, безвредны для организма [1, 5].

Из всего спектра технологий получения БАВ из природного материала наиболее перспективными и превалирующими по ряду качественных характеристик являются криогенные технологии, при реализации которых перерабатываемое сырье находится при отрицательных температурах, что обеспечивает ингибирование окислительных процессов, денатурации и диссоциации наиболее важных молекулярных комплексов. И как результат,