

ISSN 0023-1118

ХИМИЧЕСКИЕ ВОЛОКНА

Полимеры • Волокна • Текстиль • Композиты

KHIMICHESKIE VOLOKNA
POLYMERS • FIBRES • TEXTILES • COMPOSITS

www.khimvol.su



2023

УДК 577.114.083

ВЫДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАТИРОВАННОГО ПОЛИСАХАРИДА ИЗ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ СЕМЕЙСТВА ФУКУСОВЫХ

И. И. Осовская, В.С. Бровина

Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна, Высшая школа технологии и энергетики

Целью данного исследования является получение сульфатированного полисахарида (фукоидана) из микронизированных морских водорослей семейства фукусковых. Разработаны и оптимизированы условия процесса выделения фукоидана. Установлено, что наибольшее влияние на выход фукоидана оказывает кратность экстракций. Впервые для выделения высокомолекулярных фракций фукоидана используется диализ. Проведена лиофилизация жидкого фукоидана.

В группе низших водных растений, возникших в разное время, водоросли являются одними из самых важных и уникальных живых организмов в природе. Поддерживаемые четырьмя простыми ингредиентами – углекислым газом, солнечным светом, водой и неорганическими питательными веществами, водоросли очень «разумны» в своих диетических потребностях. В качестве биоремедиаторов они обладают невероятной способностью потреблять вещества, загрязняющие воду. В процессе фотосинтеза водоросли также потребляют углекислый газ и производят свежий, чистый кислород. Основные полисахариды бурых водорослей – природные полимеры, относящиеся к группе полиуронидов, их макромолекулярные цепи построены из циклических сахаридных звеньев карбоксилсодержащих уроновых кислот. По традиции классифицируют водоросли на основании особенностей строения клеток и талом, характеру их окраски, обусловленной соотношением пигментов (хлорофиллов, каротинов, ксантофилов, фикоцианов, алофикоцианинов, фикоэритринов, фукоксантинов), по описанию химического состава и свойств. Выделяют несколько типов водорослей: бурые, зеленые, белые, красные и др. На свойства водорослей оказывают влияние климатические факторы, способы их сбора и очистки [1–4].

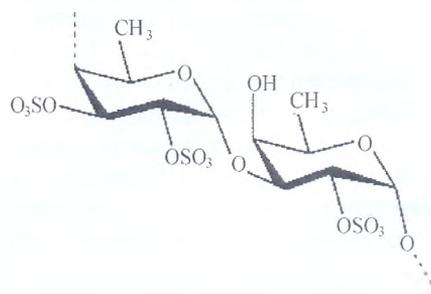
Особое место среди водорослей различного типа занимают бурые водоросли. Они являются уникальным по составу сырьем для получения ряда веществ, обладающих широким спектром полезных свойств. Содержание в бурых водорослях минеральных веществ (микроэлементов), липофильных веществ (пигментов, липидов), полифенолов, азотсодержащих соединений (белков, аминокислот), структурных (целлюлоза, альгиновые кислоты) и запасных углеводов (маннит, ламинаран, фукоидан) позволяет широко использовать их в медицине, биотехнологии и косметологии [5–7]. В последние годы объек-

том повышенного внимания и интенсивного исследования являются фукоиданы – сульфатированные полисахариды, обладающие широким спектром биологической активности, включая сильные антикоагулянтные и антитромботические свойства. Фукоиданы воздействуют на воспалительные иммуннологические системы, оказывают противоопухолевое и противовирусное действие [8–12].

Целью данного исследования была разработка способа выделения сульфатированного полисахарида (фукоидана) из микронизированных морских водорослей семейства фукусковых, оптимизация условий диализа раствора фукоидана для выделения его высокомолекулярных фракций с целью расширения возможностей его практического применения.

Объектами исследования служили механически измельченные сухие бурые водоросли семейства фукусковых (ООО «Альганика», Санкт-Петербург) и полученный из них фукоидан, который находится в клеточной стенке бурых морских водорослей и содержит значительное количество групп L-фукозы и сульфатного эфира.

Ниже представлена структурная формула фукоидана, из которой видно наличие различных активных функциональных групп.



Структура фукоидана.

Исследуемые параметры микронизированных водорослей

Параметр	Значение
Влагосодержание, %	9.1
Летучесть, %	8.7
Условная плотность, г/см ³	0.13
Поглощение паров воды, г/г абс. сухого вещества	
при $p/p_0 = 0.975$	0.27
при $p/p_0 = 0.84$	0.31

Синтез фукоидана проводился по следующей схеме:

- экстракция липидов (воск, жиры) и пигментов;
- центрифугирование с последующей сушкой на воздухе;
- деальгинизация (выделение альгинатов кальция);
- центрифугирование;
- осаждение этиловым спиртом для выделения грубой фракции фукоидана;
- диализ для выделения высокомолекулярных фракций;
- лиофильная сушка.

Предварительно были исследованы некоторые параметры бурых водорослей, а именно: относительная влажность, летучесть, условная плотность и поглощение паров воды при различном относительном давлении насыщенного пара (p/p_0). Результаты исследования приведены в таблице.

Сухую измельченную водоросль (100 г) обрабатывали гомогенной смесью растворителей метанол–хлороформ–вода при соотношении 4:2:1 для эффективного удаления липидов (жиры, воски) и пигментов. Использовали метанол и хлороформ марки о.ч. После экстрагирования липидов проводили центрифугирование на центрифуге CM-6M компании ELM при частоте 3000 об/мин с последующей сушкой на воздухе при температуре 25 °С в течение 24 ч. Выход после экстрагирования и сушки составил 92.6 г воздушно-сухих водорослей.

Для выделения фукоидана необходимо провести деальгинизацию [13]. Данный прием используется для уменьшения содержания альгинатов в полимерной фракции. Использование хлорида кальция помогает превратить содержащийся в биомассе альгинат в нерастворимую кальциевую соль. С этой целью проводили обработку сухих водорослей 2 %-ным раствором CaCl_2 (1000 мл) при температуре 85 °С и постоянном перемешивании в течение 5 ч. Экстракт отделя-

ли центрифугированием на центрифуге Eppendorf 5810R при частоте 3800 об/мин. Содержание надосадочной жидкости составило 470 мл.

Для осаждения грубой фракции фукоидана к содержимому надосадочной жидкости приливали рассчитанное количество этанола – 805.7 мл, для формирования осадка смесь ставили в холодильник. Для отделения осадка фукоидана проводили повторное центрифугирование, после чего осадок растворяли в 200 мл 2%-ного раствора CaCl_2 для дальнейшей очистки от альгинатов и других примесей.

Для очистки фукоидана от низкомолекулярной фракции проводили диализ. Молекулы растворенного низкомолекулярного вещества проходят через мембрану с порами 3.5 кДа (Spectra/Por, Канада) против дистиллированной воды в течение 12 ч. Данный этап позволяет очистить коллоидный раствор высокомолекулярных веществ от растворимых в них низкомолекулярных соединений.

Нерастворимую часть отфильтровывали на фильтре Шотта, полученный раствор фукоидана подвергали лиофилизации. Этот процесс состоит из двух стадий: заморозка в круглодонных колбах жидким азотом (–196 °С) и сушка на лиофильной сушилке ALPHA 1-2 LO при температуре –76 °С. Полученный фукоидан представляет собой порошок белого цвета с бежевым оттенком, его выход составил 5.0 г.

Полученные результаты сравнили с итогами ранее проведенных исследований, направленных на извлечение водорастворимого сульфатированного полисахарида – фукоидана с использованием хитозана в качестве экстрагента. С этой целью использовали эффективный адсорбент хитозан, извлеченный из раковин крабов и креветок. Нетоксичность, биосовместимость, биodeградируемость и катионная природа хитозана позволили образовать комплекс с анионным фукоиданом. Количество экстрагированного фукоидана из сухих водорослей после разрушения комплексов составило 5.5 г [14].

Как следует из недавно опубликованных обзорных статей [13-15], детальный структурный анализ фукоиданов из водорослей все еще представляет значительные трудности. Вместе с тем анализ литературы показал, что варьирование состава, молекулярной массы, содержания и положения сульфатных групп приводит к изменению ряда биологических свойств этих полисахаридов [17]. По этой причине структурное разнообразие фукоиданов до сих пор полностью не исследовано, а надежных корреляций между их химическим строением и биологическим действием установить не удается [18]. Очевидно, для успешных научных исследований и практических приложений необходимо разработать условия получения стандартизированного препарата.

– Изучен процесс выделения сульфатированного полисахарида – фукоидана из бурых водорослей, выход которого составил 5.0 г. Разработаны и оптимизированы условия его получения. Впервые для очистки фукоидана используется диализ для выделения высокомолекулярных фракций. Проведена лиофилизация жидкого фукоидана. Установлено, что наибольшее влияние на выход фукоидана оказывает кратность экстракций.

– В результате оптимизации технологического режима выделения фукоидана из микронизированных водорослей установлено, что наибольший выход фукоидана достигается при температуре 85 °С и двухкратной экстракции продолжительностью каждой 3 ч. Однако очистка фукоидана диализом, повышая качество продукта, несколько снижает его выход вследствие удаления низкомолекулярных продуктов.

Выражаем благодарность научному сотруднику лаборатории биотехнологии ОМРБ НИЦ КИ-ПИЯФ к.х.н. И.М. Лапиной за предоставление оборудования для проведения эксперимента.

Библиографический список

1. Усов А.И., Билан М.И. // Успехи химии. 2009. Т. 78. № 8. – С. 846-862. DOI: <https://doi.org/10.1070/RC2009v078n08ABEN004063>
2. Осовская И.И., Приходько А.А. Морские водоросли. Применение в биотехнологии. / Учеб. пособие. – СПб: ВШТЭ СПбГУПТД. 2020. – 78 с.
3. Приходько А.А., Осовская И.И., Баранова А.Е. // Вестник СПГУТД. Сер. 1. Естеств. и технич. науки. 2021. № 2. – С. 117-120. DOI: 10.46418/2079-8199_2021_2_19
4. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф. и др. // Химия растит. сырья. 2019. № 3. – С. 41-51. DOI:10.14258/jcprgm.2019035116
5. Xing R.E., Liu S., Guo Z.Y., et al. // Europ. J. Med. Chem. 2008. V. 43. No. 2. – P. 336-340.
6. Zhuang C., Itoh H., et al. // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 1995. V. 59. No. 4. – P. 563-567. DOI: 10.1271/bbb.59.563
7. Боголицын К.Г., Каплицин П.А. и др. // Химия растит. сырья. 2012. № 4. – С. 153-160.
8. Sanchez-Machado D. I., Lopez-Hernández J., et al. // Biomedical Chromatography. 2004. No. 18(3). – P. 183-190. DOI:10.1002/bmc.316
9. Боголицын К.Г., Каплицин П.А. и др. // Сверхкритич. флюиды: теория и практика. 2016. Т. 11. № 3. – С. 58-70.
10. Banks W. // Curr. Pharm. Des. 2005. No. 11(8). – P. 973-984. DOI:10.2174/1381612053381684
11. Kuznetsova T.A., Besednova N.N., et al. // Bull. Experimental Biology and Med. 2004. No. 136(5). – P. 471-473. DOI:10.1023/b:bebm.0000017096.72246.1f
12. Adhikari U., Mateu C.G., et al. // Phytochemistry. 2006. No. 67(22). – P. 2474-2482. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.05.024
13. Bilan M.I., Grachev A.A., et al. // Carbohydrates Research. 2002. V. 337. No. 8. – P. 719-730. DOI: 10.1016/S0008-621(02)00053-8
14. Приходько А.А., Осовская И.И. // StudNet. 2020. № 6.
15. Pomin V.H., Mourao P.A.S. // Glycobiology. 2008. No. 18(12). – P. 1016-1027. DOI:10.1093/glycob/cwn085
16. Kusaykin M., Bakunina I., et al. // Biotechnology J. 2008. No. 3(7). – P. 904-915. DOI:10.1002/biot.200700054
17. Zhurishkina E.V., Stepanov S.I., et al. // Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 2019. No. 100209. DOI:10.1016/j.bcdf.2019.10020
18. Cumashi A., Ushakova N. A., et al. // Glycobiology. 2007. No. 17(5). – P. 541-552. DOI:10.1093/glycob/cwm014