

УДК 664

Доцент Д.А. Черенков, аспирант Е.П. Анохина,
аспирант С.В. Кирьянова, профессор О.С. Корнеева
(Воронеж. гос. ун-т инж. технол) кафедра микробиологии и биохимии,
тел. (473) 255-55-57

Антиоксидантная активность продуктов гидролиза природных полимеров (маннана и фукоидана)

Исследована антиоксидантная активность продуктов гидролиза маннанов и фукоиданов. Изучена зависимость уровня антиоксидантной активности манно- и фукоолигосахаридов от условий гидролиза.

The antioxidant activity of oligosaccharides, obtained from mild acid and fermentative mannan and fucoidan hydrolysis was investigated. Dependence of manno- and fucoooligosaccharides antioxidant activity on hydrolysis conditions was shown.

Ключевые слова: маннан, фукоидан, кислотный гидролиз, ферментативный гидролиз, антиоксидантная активность.

Природные биополимеры, основу которых составляют минорные сахара (манноза и фукоза), а также их производные, широко используются в пищевой промышленности и сельском хозяйстве. В частности, такие вещества, как гуаровая камедь или камедь рожкового дерева, основу которой составляет маннан, сульфатированные гетерополисахариды водорослей (фукоиданы, каррагинаны), используют в качестве стабилизаторов и загустителей, применяют в виде пищевых и кормовых добавок.

Наряду со способностью к гелеобразованию и улучшению реологических показателей пищевых продуктов, исследователи отмечают высокую степень биологической активности фукозо- и маннозосодержащих биополимеров. Показано, что фукоиданы и фукозосодержащие олигосахариды обладают противовоспалительным, антикоагуляторным, противовирусным и апоптотическим действием [1-3]. По современным данным, маннаны и маннозосодержащие олигосахариды обладают иммуномодулирующим и гепатопротекторным действием [4, 5].

Исследователи частично объясняют высокую биологическую активность маннанов и фукоиданов их способностью нейтрализовать различные активные формы кислорода. Основанием для такого утверждения является обнаруженная способность фукоиданов, выделенных из морских водорослей, нейтрализовать супероксидный анион-радикал [6].

Также зарубежными исследователями показана способность частично гидролизированных маннанов эффективно взаимодействовать с перекисью водорода и хлорноватистой кислотой [7]. Однако указанные исследования не позволяют провести сравнительную оценку антиоксидантной активности маннанов и фукоиданов, а также продуктов их неполного гидролиза.

Таким образом, цель исследования – сравнительное изучение антиоксидантной активности маннанов и фукоиданов, а также продуктов их неполного гидролиза в разных условиях. В качестве источника маннана использовали камедь рожкового дерева. Фукоидан получали из высушенной биомассы водорослей *Fucus vesiculosus* по описанной методике [8, 9]. Объектами исследования были как чистые биополимеры, так и их гидролизаты, полученные в следующих условиях: 1 %-ный раствор фукоидана и маннана гидролизировали путем добавления серной кислоты до концентрации 30 % при температуре 35 °С в течение 15, 40 и 60 мин. После чего реакцию останавливали путем нейтрализации кислоты гидроксидом натрия до достижения pH = 7,0. В экспериментах также использовали ферментативные гидролизаты маннана, полученные путем добавления к 1 %-му раствору маннана 50 ед./мл ферментного препарата β -маннаназы, полученного по описанной методике [10].

Ферментативный гидролиз проводили в течение 1, 3 и 5 ч при pH = 7,0, после чего фермент инактивировали нагреванием в течение 5 мин до 100 °С. Полученные гидролизаты очищали от взвесей центрифугированием в течение 30 мин при 3 000 мин⁻¹ и фильтрованием. Антиоксидантную активность гидролизатов маннана и фукоидана определяли на приборе для измерения антиоксидантной активности «Цвет Яуза-01-АА» (Россия). В качестве стандарта использовали кверцитин.

Результаты измерения уровня антиоксидантной активности гидролизатов фукоидана представлены на рис.1. Как следует из рис. 1, антиоксидантная активность гидролизатов фукоидана, полученных после 15 мин гидролиза, составляла 0,104 мг/г и уменьшалась с увеличением продолжительности гидролиза. Уменьшение величины антиоксидантной активности фукоидана в течение 60 мин гидролиза составило 27,9 % от величины активности первого образца.

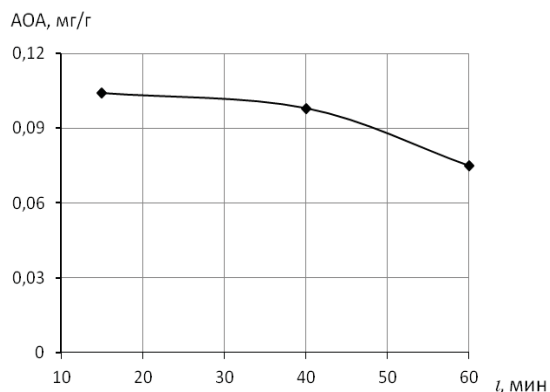


Рис. 1. Антиоксидантная активность продуктов кислотного гидролиза фукоидана ($p \leq 0,01$)

Антиоксидантная активность кислотных гидролизатов маннана оказалась ниже в сравнении с гидролизатами фукоидана (рис. 2), однако незначительно возрастала с увеличением продолжительности гидролиза.

Уровни антиоксидантной активности кислотных гидролизатов маннана и фукоидана оказались величинами одного порядка, что свидетельствует об их одинаковой способности нейтрализовать свободные радикалы при использовании в качестве пищевых добавок.

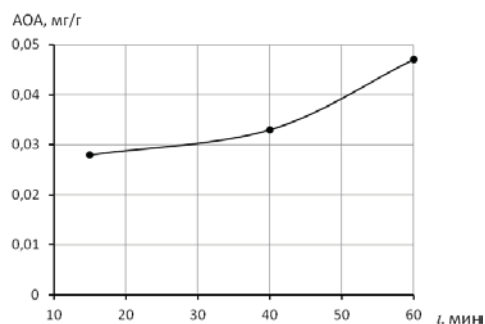


Рис. 2. Антиоксидантная активность продуктов кислотного гидролиза маннана ($p \leq 0,01$)

Значительно более высокой антиоксидантной активностью обладали манноолигосахариды, полученные путем ферментативного гидролиза маннана (рис. 3). Причем их антиоксидантная активность также возрастала с увеличением продолжительности гидролиза. Наибольшей антиоксидантной активности гидролизата удалось достичь путем инкубации маннана в растворе фермента в течение 5 ч.

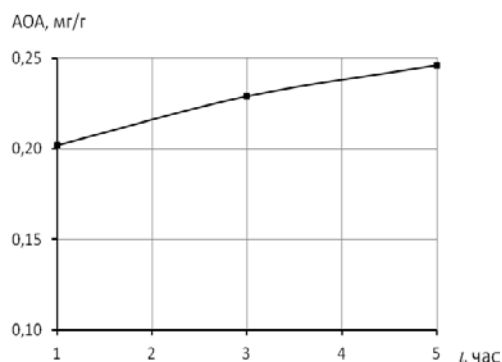


Рис. 3. Антиоксидантная активность продуктов ферментативного гидролиза маннана ($p \leq 0,01$)

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии антиоксидантной активности у образцов в пределах от 0,028 до 0,246 мг/г, что согласуется с литературными данными [6,7]. Однако полученные нами данные позволяют сделать ряд новых выводов. Как видно из рис. 1, 2 увеличение продолжительности кислотного гидролиза по-разному влияет на изменение антиоксидантной активности гидролизатов фукоиданов и маннанов. В первом случае наблюдается снижение, а во втором – увеличение активности продуктов гидролиза. По-видимому, это обусловлено структурными различиями в строении молекул этих биополимеров и химической структурой образующихся олигосахаридов.

Очевидно, что эти данные необходимо учитывать при разработке пищевых и кормовых добавок на основе манно- и фукоолигосахаридов для подбора оптимальных условий гидролиза сырья.

Как видно из рис. 3, наиболее эффективным способом получения высокоактивных манноолигосахаридов является ферментативный гидролиз. Следует отметить, что значительное преимущество расщепления молекул биополимеров с помощью гидролитических ферментов заключается в высокой специфичности, а следовательно, состав получаемых продуктов является прогнозируемым и однотипным. Вместе с тем применение ферментов требует тщательного соблюдения оптимальных физико-химических условий проведения гидролиза, что не всегда достижимо в условиях промышленного производства.

Проведенные исследования позволяют заключить, что продукты частичного гидролиза маннана и фукоидана могут быть с успехом применены в качестве натуральных антиоксидантов в пищевой промышленности и сельском хозяйстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jiao, G. Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae [Текст] / G. Jiao, G. Yu, J. Zhang and H. S. Ewart // *Marine Drugs*. – 2011. - № 9, -P. 196-223.
2. Tutor Ale, M. Important Determinants for Fucoidan Bioactivity: A Critical Review of Structure-Function Relations and Extraction Methods for Fucose-Containing Sulfated Polysaccharides from Brown Seaweeds [Текст] / M. Tutor Ale, J. D. Mikkelsen and A. S. Meyer // *Marine Drugs*. – 2011. - № 9. - P. 2106-2130.
3. Kim, E. J. Fucoidan present in brown algae induces apoptosis of human colon cancer cells [Текст] / E. J. Kim, S. Y. Park, J.-Y. Lee, J. H. Yoon Park // *BMC Gastroenterology* – 010.10:96. <http://www.biomedcentral.com/1471-230X/10/96>.
4. Gómez-Verduzco, G. Dietary supplementation of mannan-oligosaccharide enhances neonatal immune responses in chickens during natural exposure to *Eimeria spp.* [Текст] / G. Gómez-Verduzco, A. Cortes-Cuevas, C. López-Coello, E. Ávila-González and G. M. Nava // *Acta Veterinaria Scandinavica* – 2009, 51:11.
5. Madrigal-Santillán, E. Investigation on the Protective Effect of α -Mannan against the DNA Damage Induced by Aflatoxin B1 in Mouse Hepatocytes [Текст] / E. Madrigal-Santillán, J. A. Morales-González, M. Sánchez-Gutiérrez, A. Reyes-Arellano and E. Madrigal-Bujaidar // *Int. J. Mol. Sci.* – 2009. № 10, P. 395-406.
6. Rocha de Souza, M. C. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds [Текст] / M. C. Rocha de Souza, C. T. Marques, C. M. Guerra Dore, F. R. Ferreira da Silva, H. A. Oliveira Rocha, E. L. Leite // *J. Appl. Phycol.* – 2007. № 19, P. 153–160.
7. Kuo, D.-C. Partially hydrolyzed guar gum supplement reduces high-fat diet increased blood lipids and oxidative stress and ameliorates FeCl₃-induced acute arterial injury in hamsters [Текст] / D.-C. Kuo, S.-P. Hsu and C.-T. Chien // *Journal of Biomedical Science* - 2009, 16:15
8. Усов, А. И. Полисахариды водорослей. Выделение фракций фукоидана из бурых водорослей [Текст] / А. И. Усов, А. В. Кирьянов // *Биоорганическая химия*. – 1998. - № 24. – С. 437-445.
9. Санина, Т. В. Оптимизация процесса экстракции фукоидана из бурых водорослей [Текст] / Т. В. Санина, С. В. Кирьянова, О. С. Корнеева // *Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: межрегиональный сборник научных работ*. – Воронеж: ВГУ, – 2011. Выпуск 13. -С. 157-161.
10. Черемушкина, И. В. Получение рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis* – продуцента β -маннаназы [Текст] / И. В. Черемушкина, Д. А. Черенков, Е. П. Анохина, Ю.А. Рыбаков, О.С. Корнеева // *Биотехнология*. – 2011. - № 5. - С. 32-37.