

РАВНОВЕСНАЯ ДИНАМИКА СОРБЦИИ ХИМОТРИПСИНА НА КАРБОКСИЛЬНЫХ КАТИОНИТАХ

Ферментные препараты на основе протеолитических ферментов используются в медицине в основном в двух направлениях - для противовоспалительной и заместительной терапии. Первое основано на способности этих ферментов избирательно расщеплять белки некротизированных тканей, способствуя очищению ран и их заживлению, а также разжижать вязкие секреты и гной. Наиболее широко протеолитические ферменты используются для лечения недостаточности пищеварения с целью восполнения дефицита панкреатических ферментов в кишечнике.

В настоящее время в биотехнологии существует необходимость создания сорбционного метода выделения химотрипсина непосредственно из поджелудочной железы крупного рогатого скота. В связи с этим необходимо систематическое изучение динамики сорбции химотрипсина.

Учитывая структурные особенности, как химотрипсина, так и карбоксильный катионитов, а также требования, предъявляемые к сорбентам, используемым в колоночной хроматографии, равновесную динамику сорбции химотрипсина изучали на макропористом сорбенте БДМ-24.

Предварительное изучение влияния рН на равновесные сорбционные параметры в сорбционной системе химотрипсин - карбоксильный катионит БДМ-24 показало, что наиболее полно сорбция протекает в кислой и нейтральной средах.

В ходе изучения равновесия сорбции было установлено, что дополнительная десорбция химотрипсина с катионита БДМ-24 осуществляется при переходе белка в анионное состояние при рН раствора от 9 и выше. Эти данные были подтверждены и в серии динамических опытов при проведении десорбции простейшими буферными растворами с различным значением рН. Поэтому в большей части дальнейших экспериментов с многокомпонентными буферными растворами для последних выбиралось щелочное значение рН = 10.2

В динамических условиях было подробно исследовано влияние фактора ионной силы и гидрофобности элюирующего раствора на формирование концентрационного фронта и общий выход химотрипсина на катионите БДМ-24. В качестве гидрофобного агента использовался изопропиловый спирт, а ионная сила задавалась изменением содержания ацетата аммония.

Показано постепенное обострение концентрационного фронта и увеличение общего выхода химотрипсина по мере увеличения ионной силы десорбирующего раствора. Наиболее обостренный пик формируется при десорбции химотрипсина 5.0 N ацетатно-аммониевым буфером при рН=6.8.

Увеличение ионной силы спиртосодержащих буферов способствовало усилению их десорбирующей способности. Например, дополнительные 23% (с 65 до 88%) выхода достигаются увеличением ионной силы десорбирующего раствора с 0.2 до 0.7 N.

На основании полученных экспериментальных данных по динамике сорбции химотрипсина предложена производственная схема выделения химотрипсина из экстракта поджелудочной железы крупного рогатого скота.