

## ДИСКУСІЯ

DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3\(35\).77953](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2016.3(35).77953)

УДК 577.151: 543.54

**П.І. Гвоздяк**

Інститут колоїдної хімії та хімії води імені А.В. Думанського НАН України,  
Київ, Україна, e-mail: [gvozdyak@ukr.net](mailto:gvozdyak@ukr.net)

### **ЕЛЕКТРОУТРИМУВАННЯ ЯК РУШІЙНА СИЛА ЗЛАГОДЖЕНОЇ РОБОТИ ЕНЗИМІВ НА МЕМБРАНАХ ЖИВИХ КЛІТИН**

*Візуальне (за допомогою світлового мікроскопа) спостереження явища електроутримувannya клітин мікроорганізмів та досліди з іммобілізації ензимів на колекторах в електричному полі дають підстави передбачити визначальну роль електроутримувannya у злагодженій роботі ферментних систем в клітинах будь-якого живого організму завдяки транспорту (проходженню) крізь мембрану заряджених йонів, які створюють неоднорідне електричне поле, поляризують молекули ензимів, змушують їх до пульсуючого руху, що сприяє їх взаємному контакту між собою і забезпечує узгоджене функціонування біологічного конвеєра з біотрансформації відповідних субстратів.*

*Ключові слова: електроутримувannya, іммобілізація ензимів, функціонування ензимів на мембранах.*

Свого часу група дослідників ІКХХВ АН України (П.І. Гвоздяк, Т.П. Чехівська, В.Д. Гребенюк і Л.П. Кошечкіна) виявили надзвичайно цікаве явище, яке дістало назву «електроутримувannya» [1] та яке, на жаль, залишається поза увагою дослідників, зокрема, ензимологів, біофізиків, мембранологів та інш.

Суть електроутримувannya полягає у тому, що поміщені в електричне поле зернисті, пористі чи волокнисті діелектрики та провідники другого роду (колектори, загрузки) утримують з води, що протікає крізь них, і накопичують дисперсні, колоїдні та розчинені у воді заряджені, чи такі, що поляризуються, речовини (живі та мертві клітини мікроорганізмів, їх детрити, віруси, білки, нуклеїнові кислоти, інші біополімери, глинисті мінерали, пігменти, барвники та деякі інші органічні речовини тощо). Після зняття електричного поля ці речовини відділяються від колектора, деагредуються, суспендуються і легко вимиваються проточною водою. Повторне накладання електричного поля на колектор знову затримує з води, що протікає, вказані об'єкти, і так без кінця [2–7].

Явище електроутримувannya та, зокрема його прикладна частина під назвою «електрофільтрування» [8, 9] стали предметом декількох кандидатських дисертацій [10–14], а найбільш детально описані в докторській дисертації [15].

© П.І. Гвоздяк, 2016



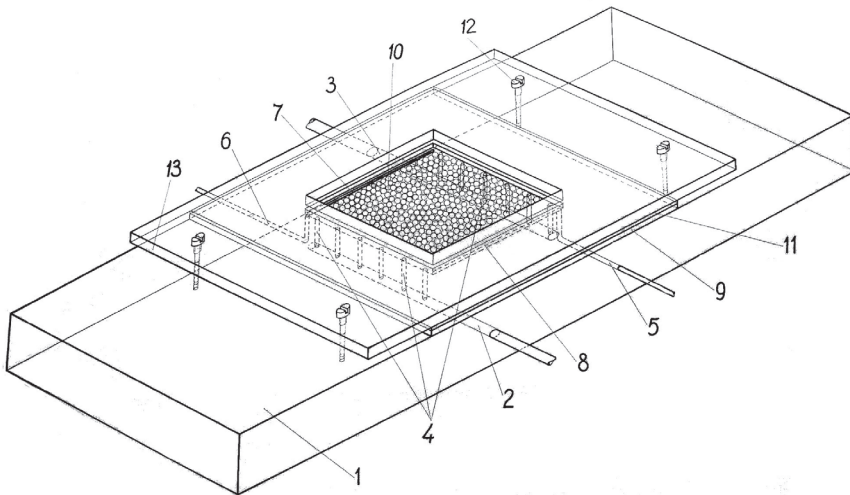
Цікаво, що при електроутримуванні на зернистому силікагелі як колекторі відомої мікробіологам «чудесної палички» – бактерії *Serratia marcescens* – присутній у ній червоний пігмент продігіозин «вибивався» з бактеріальних клітин і сорбувався на силікагелі, забарвлюючи його в яскраво багрянний колір [16]. Механізм цього явища не встановлено.

Проте особливо сильне враження справив той факт, що при електроутримуванні ензимів вони не втрачали своїх каталітичних властивостей, і таким чином електроутримування виявилось четвертим методом іммобілізації ензимів [17–19].

До речі, майже через десятиліття після наших публікацій з приводу електроутримування ферментів, відомий японський ензимолог, професор Токійського університету Shintaro Furusaki опублікував статтю про «новий метод іммобілізації ензиму на основі сил Кулона» [20] без посилань на наші роботи. З'ясувалося, проф. Furusaki, не будучи знайомим з нашими публікаціями у провідних наукових журналах «Доклады Академии наук СССР», «Микробиология», «Прикладная биохимия и микробиология» фактично заново, самостійно перевідкрив електроутримування. Невдовзі Токійський університет офіційно повідомив про включення ІКХХВ АН УРСР в число «500 кращих лабораторій світу».

У спеціалістів з колоїдної хімії та електрохімії виникало багато різноманітних, часом доволі оригінальних, проте неадекватних, спекулятивних пояснень явища електроутримування.

Для візуалізації процесу вилучення з потоку водної суспензії клітин мікроорганізмів і затримки їх на зернах колекторів під впливом електричного поля виготовили спеціальну камеру [21] рис. 1.



**Рис. 1. Камера для спостереження електроутримування мікроорганізмів під оптичним мікроскопом**

**Fig. 1. The chamber for monitoring the electroretention of microorganisms under the optical microscope**

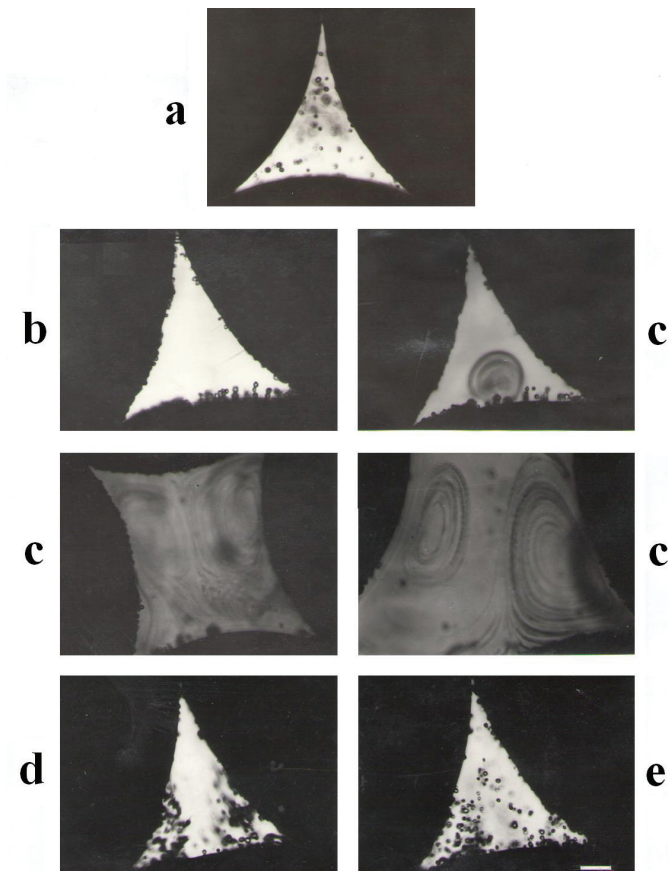
Основою камери слугувала пластинка 1 із органічного скла розмірами 75 x 28 x 4 мм. В бокових стінках пластинки з протилежних сторін висвердлено канали 2 і 3, що сягають 3/4 її ширини, з виходом у вигляді тонких отворів 4 на верхню площину. Ці канали з отворами призначені для підводу і відводу суспензії. В отвори (5 і 6), що так само виходять на поверхню пластинки, просунуто дротики (7 і 8), які служили електродами. Зверху на пластинку покладена рамка (9) з тонкої (0,6 мм) еластичної листової гуми. Камеру, що утворилася, розмірами 15×15×0,6 мм заповнювали шаром кулькоподібних зерен силікагелю 10, діаметром 0,5 мм і накривали покривним скельцем (11), яке притискали за допомогою шурупів (12) до гуми (9) рамкою (13) з тонкого органічного скла. Камеру поміщали на предметний столик мікроскопа, забезпечували протік суспензії за бажанням справа наліво або зліва направо і спостерігали за поведінкою клітин мікроорганізмів при різних напруженостях електричного поля на електродах. Досліди проводили з суспензіями клітин різних мікроорганізмів на дистильованій воді. Для більшої чіткості зображення брали забарвлені фуксином і метиленовим синім силікагель і дріжджі, а спостереження вели в площині, що проходила через діаметр кульок заповнювача.

При протіканні суспензії через камеру без накладення електричного поля тільки окремі клітини адсорбуються на поверхні силікагелю, а основна кількість мікроорганізмів виноситься потоком рідини (рис. 2а). Вмикання струму приводить мікробні клітини в рух, відмінний від напрямку течії суспензії. При малій загальній напруженості електричного поля (близько до 5 В/см) цей рух не дуже інтенсивний, більш-менш упорядкований і направлений у бік анода. Клітини притягуються до поверхні зерен силікагелю, та особливо велика кількість їх накопичується в місцях контакту зерен між собою. На зверненій до катоду стороні поверхні силікагелю виникають численні ланцюжки з мікробних клітин, і якщо, наприклад, у випадку *Saccharomyces cerevisiae* кількість клітин в ланцюжку становить 3–7 (рис. 2 б) то у *Bacillus subtilis* сягає двадцяти і більше особин у кожній. У просторі між зернами силікагелю спостерігається ледь помітний рух клітин по колу, який посилюється зі збільшенням напруженості електричного поля (рис. 2 с).

В більших об'ємах, створених 4-5 зернами силікагелю, можна спостерігати по два-три центри, навколо яких обертаються клітини мікроорганізмів (рис. 2с).

Характерно, що, якщо навколо одного центру клітини рухаються за годинниковою стрілкою, то навколо сусіднього – проти годинникової стрілки. Припинення потоку суспензії або повільна зміна його на зворотній не позначається на напрямку обертання мікроорганізмів, зате зміна полярності на електродах призводить до негайної зміни напрямку обертання клітин на протилежний. При подальшому збільшенні напруженості електричного поля (порядку 70–200 В/см) клітини мікроорганізмів накопичуються в основному на стиках зерен силікагелю (рис. 2d), їх рух по колу пригнічується, і в міжзерновому просторі переважає інтенсивний поступальний рух в напрямку до аноду.





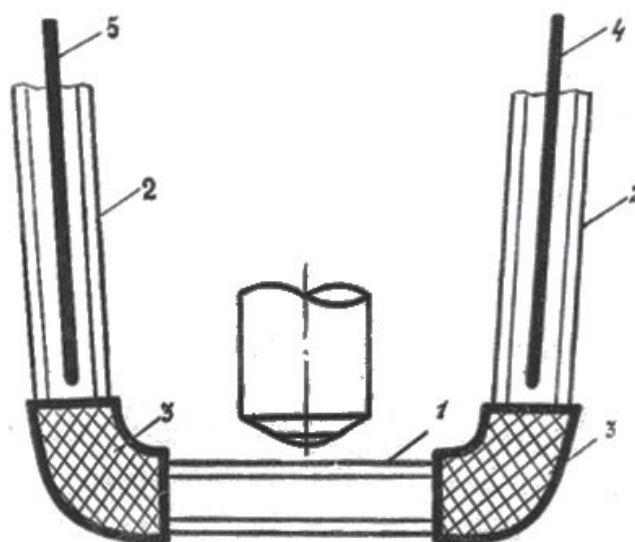
**Рис. 2. Поведінка дріжджових клітин під час руху суспензії між зерен силікагелю при напруженості електричного поля (В/см):**  
 а – 0; б – 5; с – 20; д – 150; е – після вимкнення електричного струму.  
 Масштабна лінійка 50 мкм. (мікрофотографії оптичної мікроскопії)

**Fig. 2. The behaviour of yeast cells during suspension movement between the granules of silica gel in the electric field (V/cm):**  
 а – 0; б – 5; с – 20; д – 150; е – after switching off the electric current.  
 Scale bar 50  $\mu\text{m}$ , (photomicrographs of optical microscopy)

Після відключення струму клітини мікроорганізмів, що брали участь в обертальному русі, та основна маса клітин, що накопичилися на поверхні силікагелю, захоплюються потоком рідини (рис. 2е). При цьому ланцюжкові агрегати і конгломерати клітин тут же розсипаються.

Важливу роль у забезпеченні ефекту утримування мікроорганізмів відіграє, очевидно, електростатична взаємодія клітин з поляризованими полем матеріалами. Для підтвердження факту існування такої взаємодії проводили безпосереднє спостереження за поведінкою мікробних клітин в присутності частинок різноманітних матеріалів в електричному полі [22, 23]. Ми використовували гранично просту установку, схему якої представлено на рис. 3. Плоскопаралельний

скляний капіляр Перфільєва [24] (1) з'єднували зі скляними трубочками (2) за допомогою двох шматочків тонкого гумового шлангу (3). Комірку заповнювали суспензією клітин мікроорганізмів у суміші з частинками досліджуваного матеріалу, та за допомогою спеціального тримача кріпили до столика мікроскопа. В скляні трубочки поміщали електроди (4) і (5) та мікроскопіювали препарат за різних режимів електричного живлення. Досліджували поведінку клітин *Bacillus subtilis* 21 (деструктор капролактаму та гексаметилендіаміну) в присутності частинок глинистих мінералів (монтморилоніту, каоліну, вермикуліту, палигорскіту), ґрунту, піску, силікагелю (марки КСМ-2,5 та КСМ-5), аеросилу А-175, скла (у тому числі кварцового), азбесту, йонообмінних смол (АВ-17 і КУ-2), поліуретану, тефлону, графіту, активованого вугілля, заліза, міді, а також волокон целюлози, бавовни, вовни, шовку, капрону, нейлону та деяких інших під впливом постійного електричного струму.



**Рис. 3. Камера для дослідження поведінки клітин мікроорганізмів в електричному полі в присутності окремих частинок різноманітних матеріалів**

(1 – капіляр Перфільєва; 2 – скляні трубки; 3 – з'єднувальні шланги; 4 і 5 – електроди).

**Fig. 3 The chamber for the optical microscopic examination of the behavior of microbial cells in an electric field in the presence of the individual particles of various materials**

(1 – Perfilev's capillary; 2 – glass tubes; 3 – connecting hoses; 4 and 5 – electrodes).

Взаємодія мікробних клітин з різноманітними матеріалами в постійному електричному полі зумовлюється природою цього матеріалу. Так, при однакових значеннях напруженості електричного поля і однієї і тієї ж суспензії мікроорганізмів дуже велика кількість клітин накопичується на частках аніоніту, глинистих мінералів, аеросилу, катіоніту, йонообмінних волокон, шовку. Провідники першого роду (вугілля, метали) абсолютно не взаємодіють з клітинами мікробів, які переміщуються в постійному електричному полі до аноду,





обходячи і протікаючи мимо цих частинок. Решта досліджуваних матеріалів займають проміжну позицію.

На рис. 4 наведено фотографії, що ілюструють поведінку клітин однодобової культури *Bacillus subtilis* в присутності частинок глинистого мінералу монтморилоніту. В звичайних умовах (без накладення електричного поля) тільки деякі клітини контактують з поверхнею глини (рис. 4 а): частинка мінералу має однойменний з клітинами від'ємний заряд, а суспензія приготовлена на дистильованій воді, яка не містить достатньої кількості катіонів, що сприяли б адсорбції. Окрема частинка мінералу в капілярі не може служити бар'єром для мікробних клітин, і вони її легко обходять при рухові суспензії відносно частинки (чого можна легко досягнути зміною рівня рідини в одній із скляних трубочок). Однак достатньо накласти на систему електричне поле постійного струму, як клітини збираються у значних кількостях на звернутій до катоду стороні поверхні глинистого мінералу та інтенсивно притягуються до нього (рис. 4б). Після відключення поля бактеріальні клітини залишають глину, утворюючи рівномірну суспензію. Повторне накладання електричного поля знову призводить до накопичення клітин на частинці; при зміні полярності на електродах всі мікробні клітини різко відштовхуються від цієї частини поверхні мінералу, а до протилежної сторони притягуються інші (рис. 4с).

Різниця у взаємодії клітин мікроорганізмів з поверхнею різноманітних матеріалів в електричному полі зумовлені не тільки природою цих матеріалів, але й їх станом, зокрема, гідрофільністю. Це можна продемонструвати на прикладі глинистих мінералів, гідрофільність яких знижується з підвищенням температури випалу.

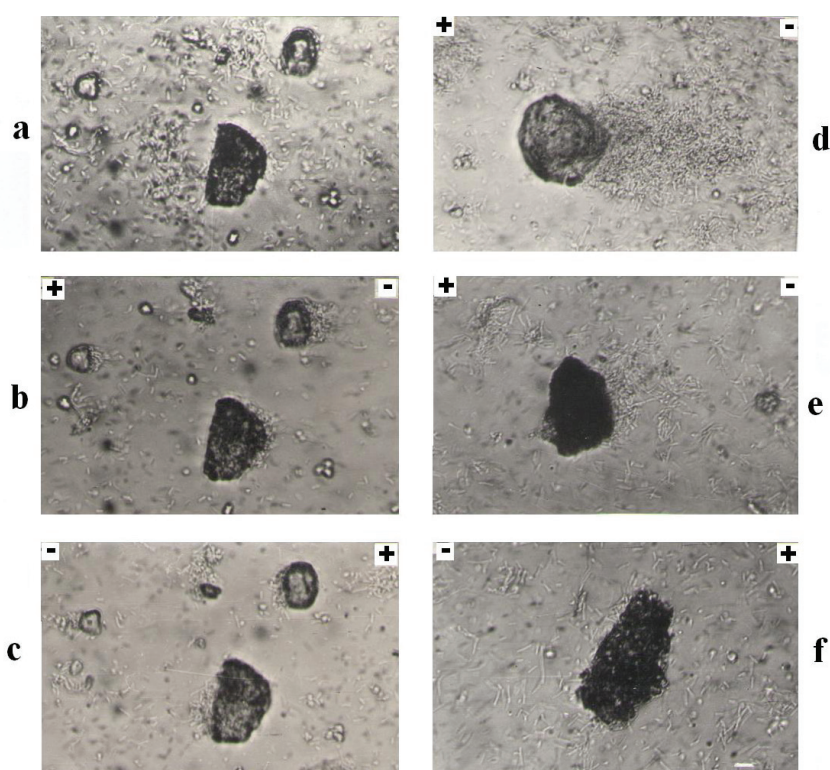
Ми проводили досліди з природним монтморилонітом Черкаського родовища. Відомо, що при температурі 130–140 °С монтморилоніт втрачає сорбційно зв'язану воду (зворотний процес); при 550–575 °С відбувається незворотна дегідратація мінералу – він позбавляється кристалізаційної (структурної) вологи; при 850 °С змінюється кристалізаційна структура мінералу, з'являється альбіт, далі шпінель та інші високотемпературні кристалічні фази. У цій серії дослідів застосовували мінерали, нагріті до 100–1000 °С та охолоджені разом з муфелем. Монтморилоніт, що спікся, дробили, відбирали фракції з розміром частинок 30–40 мкм і змішували з суспензією мікроорганізмів у дистильованій воді. Використовували інтактні добові культури *Saccharomyces cerevisiae*, що виростили на сусло-агарі (СА) (клітини овальної форми, розміром 4,0 × 11,0 мкм), і *Bacillus subtilis*, що виростили на м'ясо-пептонному агарі (МПА) (палички 1,5–3,0 × 0,5–0,8 мкм). Концентрація мікроорганізмів у суспензії становила 10<sup>6</sup>–10<sup>8</sup> клітин/мл. Для порівняння інтенсивності взаємодії мікробних клітин з окремими частинками глини, які піддавалися різній температурній обробці, у кожній серії дослідів користувалися однією і тією ж суспензією мікроорганізмів, а для спостереження вибирали більш-менш однакові за розміром частинки монтморилоніту. На електроди протягом однакового проміжку часу подавали випрямлений діодами струм. Картину фіксували на фотоплівці, здійснювали



зміну полярності і знову через певний час фотографували поле зору. В камері створювали напруженість електричного поля 15–25 В/см.

Відносно великі та масивні частинки монтморилоніту за такої напруженості поля не зрушувалися з місця, а клітини інтенсивно зміщувалися в напрямку аноду. Однак, як тільки вони наближалися до поляризованої часточки глини, то відразу ж притягувалися звернутою до катоду стороною поверхні, накопичувалися на ній та утворювали численні ланцюгові агрегати і нагромадження.

На рис. 4 приведено фотографії, на яких зафіксовано результат двохвилинної взаємодії клітин *Bacillus subtilis* з частинками монтморилоніту без випалу та різного ступеню (температури) випалу, в електричному полі, напруженість якого становила 25 В/см.



**Рис. 4. Поведінка клітин *Bacillus subtilis* в присутності частинок глинистого мінералу монтморилоніту:**

без накладення електричного поля (а), в електричному полі постійного струму (b) та після зміни полярності на електродах (c); в електричному полі невипаленого монтморилоніту (d); після випалу глини при 500 °С (e); та після випалу глини при 800 °С (f).

**Fig. 4. The behavior of *Bacillus subtilis* cells in the presence of particles of a clay mineral montmorillonite:**

without the imposition of an electric field (a), in electric field of direct current (b) and after change of the polarity on the electrodes (c); in electric field of not scorched montmorillonite (d); after firing the clay at 500 °C (e); after firing the clay at 800 °C (f). Scale bar 1 μm, (photomicrographs of optical microscopy)

Проведені дослідження показали, що частинки необробленого глинистого мінералу та зразки, випалені за температури нижчої за 500-600 °С, при дії електричного поля постійного струму інтенсивно накопичують на своїй звернутій до катоду поверхні мікробні клітини. Зміна полярності на електродах призводить до різкого обопільного відштовхування частинок глини та клітин мікроорганізмів. У цей момент при значному скупченні мікробних клітин на поверхні мінералу, чого можна досягти збільшенням часу подачі напруги або застосуванням більш густої суспензії, спостерігається різке зміщення частинки глини у бік, протилежний до напрямку руху клітин. Такого самого роду сили відштовхування діють і між окремими клітинами мікроорганізмів під час зміни полярності. Після вимкнення струму клітини з часом знову розподіляються рівномірно по всьому об'єму камери, не утворюючи конгломератів або скупчень.

Така поведінка частинок глини та клітин мікроорганізмів свідчить про суттєву роль подвійного електричного шару (ПЕШ) в їх поляризації. Відомо, що частинки глинистого мінералу та мікробні клітини мають у воді певні подвійні електричні шари, зовнішня обкладинка яких представлена позитивно зарядженими йонами (рис. 5a). Ця обставина перешкоджає клітинам мікробів інтенсивно адсорбуватися на поверхні частинки природної глини. Накладання постійного електричного поля призводить до зміщення ПЕШ, поляризації частинок, в результаті чого клітини підтягуються до частинки на близьку відстань (рис. 5b). При відключенні електричного поля подвійні електричні шари частинок мінералу і мікроорганізмів повертаються у вихідне, «нормальне» положення та перекриваються (рис. 5c) і, будучи однойменно зарядженими, викликають різке взаємне відштовхування частинок і клітин одне від одного (рис. 5d). Це одне з проявів відомих електрокінетичних явищ.

Таким чином, ефект електроутримування зв'язаний, очевидно, з поляризацією речовин в електричному полі, перерозподілом зарядів, електростатичною, диполь-дипольною взаємодією матеріалів (колекторів) і мікробних клітин, які, як відомо, мають у водному середовищі значний дипольний момент. Така взаємодія визначальним чином забезпечує утримання дисперсних часток різними зернистими, пористими і волокнистими матеріалами в електричному полі.

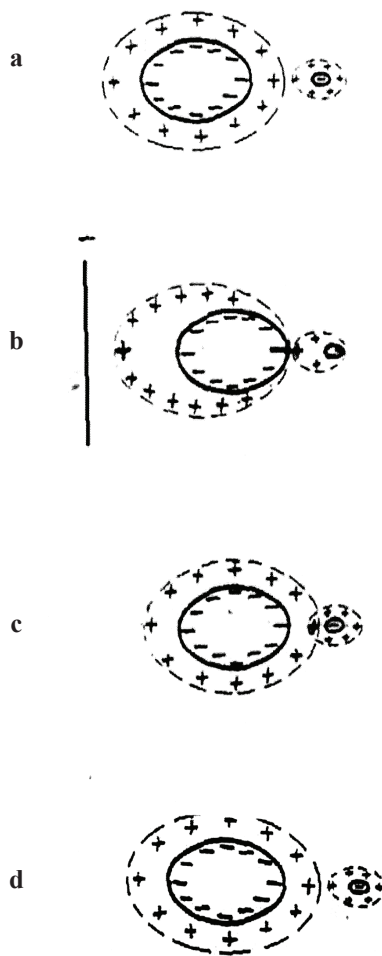
Процеси електроутримування мікробних клітин, що спостерігаються безпосередньо за допомогою світлового мікроскопа, можуть служити моделлю тих процесів, які поки-що неможливо експериментально побачити: йдеться, зокрема, про іммобілізацію ензимів на колекторах, розміщених в електричному полі.

Як колектор ензимів використовували вату або знежирену хлороформом овечу шерсть. Через таку загрузку, поляризовану електричним полем постійного струму, пропускали розчини кристалічної бактеріальної амілази (Daiwa Kasei К.К.), очищеного амілолітичного ферментного препарату із гриба *Aspergillus awamori* (УкрНДІ Харчової промисловості, Харків), амілосубтиліну ГЗх-1 (Вільнюський завод ферментних препаратів) або безклітинний екстракт культури *Bacillus subtilis 21*, що містить дезаміназу гексаметилендіаміну (ГМД) –



токсичної синтетичної речовини, що знаходиться у стічних водах виробництва анідного волокна.

Через загрузку з закріпленням на ній за принципом електроутримання ензимом пропускали розчин відповідного субстрату в дистильованій воді – 1 % розчин оклейстеризованого водорозчинного картопляного крохмалю або 0,1 % розчин ГМД.



**Рис. 5.** Схема взаємодії мікробної клітини з частинкою глинистого мінералу у водній суспензії – а; при накладанні електричного поля – б; після відключення поля – с і d

**Fig. 5.** The scheme of interaction of microbial cell with a clay mineral particle in an aqueous suspension – a; in imposing electric field – b; after disabling the field- c and d

Показано, що утримувані поляризованим колектором кристалічна і технічна амілази гідролізують крохмаль до декстринів, які не забарвлюються йодом, а також до мальтози і глюкози. Експерименти тривали до 12 тижнів без суттєвої втрати активності ензимів.

Імобілізовані в електричному полі ферментні системи з *Bacillus subtilis* розкладали ГМД практично повністю. Експеримент тривав протягом 2 тижнів [25, 26].

Отже, ензими, що утримуються в електричному полі, здійснюють відповідні перетворення субстратів. Слід зазначити, що при виключенні поля ензими вимиваються потоком рідини з об'єму загрузки. При цьому вони не втрачають своїх каталітичних властивостей і можуть бути повторно імобілізовані.

Встановлення факту зберігання активності ензимів при їх електроутримуванні відкриває перспективу для використання цього явища в біотехнології при імобілізації ензимів а також при розробці методів очистки і виділення ензимів з біологічних сумішей.

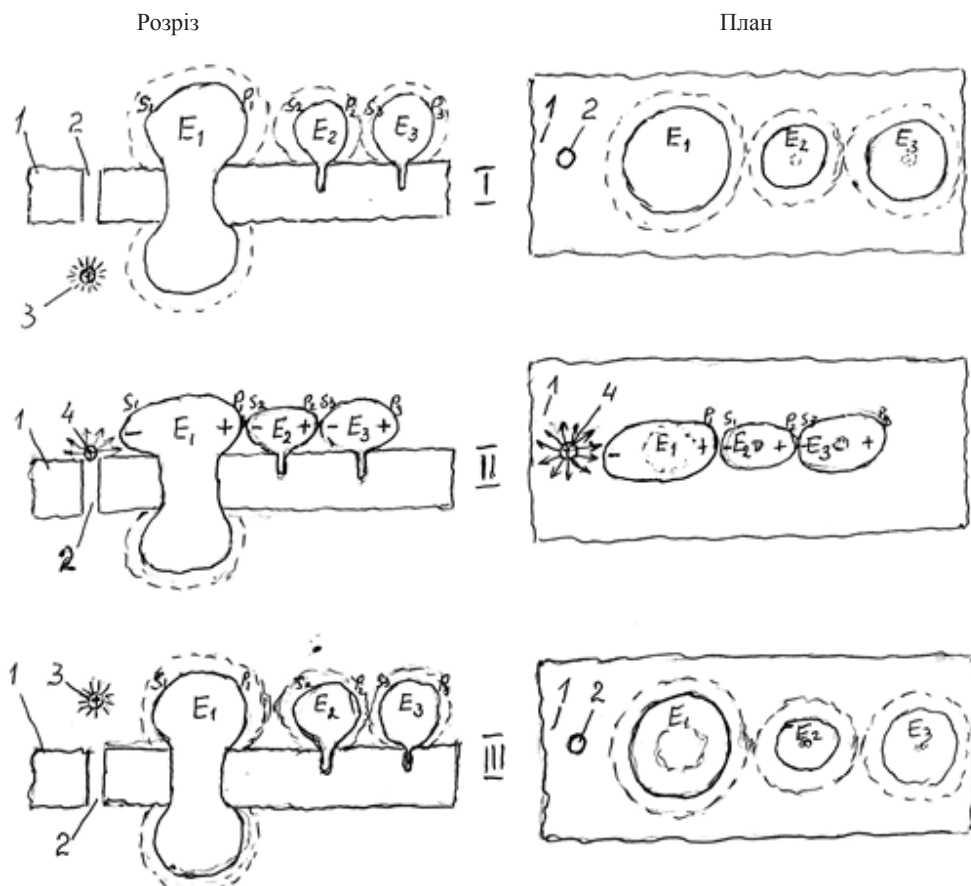
Закріплення ензимів за типом електроутримування має переваги порівняно з іншими типами імобілізації. Так, для його здійснення не потрібно спеціально підготовлених колекторів і будь-яких реактивів; джерелами придатних до закріплення ензимів можуть бути як чисті кристалічні, так і технічні препарати, навіть безклітинні екстракти; ензими можна легко зняти з колектора (для цього досить відключити електричне поле і промити систему водою), а потім використати його для закріплення тих самих або інших ензимів; є можливість імобілізувати комплекс ензимів або суміш різноманітних мікробних культур та ензимів; електроутримування зводить до мінімуму небезпеку мікробного псування імобілізованих ензимів.

Істотним обмеженням і недоліком електроімобілізації ензимів є те, що систему весь час необхідно тримати під напругою, а це утруднює роботу у випадках, коли субстрат чи продукт реакції дуже рухливі в електричному полі, або коли для проведення ферментативної реакції необхідне середовище з високою йонною силою.

Описана імобілізація ензимів аналогічна, очевидно, електроутримуванню мікроорганізмів і реалізується завдяки електростатичній і диполь-дипольній взаємодіям між поляризованими частинками колектора і молекулами білка, що несуть відповідний заряд і мають в електричному полі, як відомо, великий дипольний момент. Через те що матеріал колектора має відмінну від рідини діелектричну проникливість і поляризується, електричне поле в об'ємі робочої камери різко неоднорідне, з численними градієнтами потенціалу. Це створює умови для діелектрофоретичного переміщення білків-диполів у зони більшої напруженості поля, і ензими до поверхні колектора доставляються за рахунок електро- та діелектрофорезу. При вимкненні електричного поля диполь-дипольна взаємодія зникає, і білок вимивається з колектора.

Як відомо, ензими у будь-якій живій клітині об'єднані на різноманітних мембранах в ансамблі з чіткою просторовою організацією і фіксацією, причому всі ензими ансамблю працюють злагоджено у просторі та часі, здійснюючи поступово, по-стадійно, як на конвеєрі, перетворення хімічних сполук: продукт однієї ензиматичної стадії служить субстратом наступної. Деякі ензими такого конвеєру вмонтовані в тіло мембрани, пронизують її, фіксовані в ній і не мо-





**Рис. 6 Фрагментарна схема функціонування ансамблю ензимів на мембрані живої клітини за принципом електроутримання.**

1 – мембрана; 2 – йонний канал; 3 – гідратований (нейтралізований) катіон; 4 – «голий» катіон;  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$  – ензими ансамблю; S, P – субстрати і продукти відповідних ензиматичних реакцій;  $P_1=S_2$ ,  $P_2=S_3$ . I, III – ситуація за відсутності неоднорідного електричного поля; II – ситуація за наявності неоднорідного електричного поля.

**Fig. 6. Fragmentary scheme of the function of the enzyme ensemble on the membrane of a living cell on the basis of electroretention.**

1 – membrane; 2 – ion channel; 3 – hydrated (neutralized) cation; 4 – «naked» cation;  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$  – enzymes of the ensemble; S, P – substrates and the respective products of enzymatic reactions;  $P_1=S_2$ ,  $P_2=S_3$ . I, III – the situation in the absence of inhomogeneous electric field II – the situation in the presence of an inhomogeneous electric field.



жуть інтенсивно переміщатися у мембрані, інші ж – розміщені на мембрані та мають можливість латерально рухатися (звісно, у певних межах) по її поверхні.

Процеси, описані у явищі електроутримувannya, забезпечують механіку переміщення та злагодженої взаємодії ензимів у їх ансамблях на (у) мембранах, що дозволяє запропонувати нову гіпотезу біофізичного механізму функціонування ланцюгів ензиматичних реакцій. Саме неоднорідне електричне поле точкових зарядів катіонів, що проходять крізь мембрану під впливом трансмембранного потенціалу, примушує локалізовані у мембранах ензими поляризуватися, утворюючи тимчасові диполі, а розміщені на мембранах ензими не тільки поляризуватися, а ще й переміщатися у напрямку більш напруженого електричного поля і таким чином вступати у безпосередній фізичний контакт з відповідними сусідами ензиматичного ансамблю (рис. 6), під час якого й здійснюється передача хімічних сполук – продукту попереднього ензиму біоконвеєра як субстрату до наступного ензиму і т.д. Після зникнення електричного поля в результаті гідратації йону (наприклад,  $K^+$ ) чи його нейтралізації протийоном (наприклад,  $Cl^-$ ), молекули ензимів позбавляються дипольного статусу, відновлюють свій нормальний подвійний електричний шар (чи гідратну оболонку), і це призводить до їх розштовхування, роз'єднання, повернення у вихідне положення на мембрані; ензими здійснюють притаманні їм трансформації хімічних сполук і чекають появи наступного неоднорідного електричного поля, зумовленого появою на внутрішній стороні мембрани чергового дегідратованого («голоного») йона, яке знову спричиняє утворення диполів на ензимах і забезпечує рух і фізичний контакт між ними для злагодженої передачі проміжних продуктів чергового ензиматичного акту.

Цей йон при виході на поверхню мембрани (байдуже з якого боку – внутрішньоклітинної, чи зовнішньої) створює об'ємне неоднорідне електричне поле, яке викликає поляризацію і спричиняє взаємодію, рух та контакт між собою ензимів, що розташовані на/в мембрані навколо йонного каналу, тобто один йон може «обслуговувати» не один, а декілька ансамблів ензимів, розташованих з усіх сторін поблизу йонного каналу.

До речі, запропонована гіпотеза пояснює також, для чого молекули ферментних білків мають значно більші розміри, ніж це потрібно для здійснення суто ензиматичних реакцій: великий розмір молекули ферментного білку створює можливість більшої її поляризації, утворення потужнішого дипольного моменту, так необхідного для переміщення в неоднорідному електричному полі.

Таким чином, ферментативні реакції в клітині чітко організовані та керовані і детермінуються проходженням йонів крізь мембрану. Субстрати – продукти багатоступеневих ензиматичних реакцій передаються від ензиму до ензиму при їх безпосередньому контакті, що здійснюється за принципом явища електроутримувannya.

***Цією публікацією автор має на меті привернути увагу наукової спільноти і запросити фахівців до дискусії щодо запропонованої гіпотези про роль електроутримувannya в узгодженому функціонуванні комплексів ензимів.***



**П.И. Гвоздяк**

Институт коллоидной химии и химии воды имени А.В. Думанского НАН Украины,  
Киев, Украина, e-mail: gvozdyak@ukr.net

**ЭЛЕКТРОУДЕРЖИВАНИЕ КАК ДВИЖУЩАЯ СИЛА  
СЛАЖЕННОЙ РАБОТЫ ЭНЗИМОВ НА МЕМБРАНАХ  
ЖИВЫХ КЛЕТОК**

**Реферат**

*Визуальное (с помощью светового микроскопа) наблюдение явления электроудерживания микробных клеток и опыты по иммобилизации энзимов на коллекторах, помещенных в электрическое поле, дают основания предположить определяющую роль электроудерживания в слаженной работе ферментных систем в клетках любого живого организма благодаря транспорту (прохождению) через мембрану ионов, которые создают неоднородное электрическое поле, поляризуют молекулы энзимов и приводят их в пульсирующее движение, что способствует их взаимному контактированию между собой и обеспечивает согласованное функционирование биологического конвейера по биотрансформации соответствующих субстратов.*

*Ключевые слова: электроудерживание, иммобилизация энзимов, функционирование энзимов на мембранах.*

**P.I. Gvozdyak**

A.V. Dumansky Institute of Colloid and Water Chemistry,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine,  
e-mail: gvozdyak@ukr.net

**ELECTRORETENTION AS MOTIVE FORCES OF  
CONCERTED ACTION OF ENZYMES  
ON THE MEMBRANES OF LIVING CELLS**

**Summary**

*Visual (by light microscope) observation of the phenomenon of the electroretention of microbial cells and the experiments with immobilization of the enzymes on the collectors in electric field suggests a decisive role of the electroretention coordinated action of enzyme systems in the cells of any living organism due to the transmembrane transport of ions, which create an inhomogeneous electric field, polarize the molecules of the enzymes that cause them to pulsating movement which contributes to their mutual contact with each other and provides the coordinated functioning of the biological conveyor biotransformation of the respective substrates.*

*Key words: electroretention, immobilization of enzymes, the functioning of enzymes on membranes.*





## References

1. Gvozdyak PI Electrorretention. *Vodoochistka. Vodopodgotovka. Vodossnabzhenie*. 2014, 8, 32-43 (in Russian).
2. Gvozdyak PI, Grebenyuk VD, Koshechkina LP, Chekhovskaya TP, Gvozdyak RI, Rotmistrov MN, Schucheva AV The method of water purification. *USSR Patent* 470503, 15.05.1975 (in Russian).
3. Gvozdyak PI, Chekhovskaya TP, Grebenyuk VD, Koshechkina LP Retention of microorganisms on granular media, placed in an electrical field. *Doklady Akademii nauk USSR*. 1974, 214, (2), 454-455 (in Russian).
4. Gvozdyak PI, Mogilevich NF Retention of nucleic acids in an inhomogeneous electric field of direct current. *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1975, B. 5, 453-454 (In Ukrainian).
5. Gvozdyak PI, Grebenyuk VD, Koshechkina LP, Chehovska TP, Gvozdyak RI Electrorretention of particles with varying degrees of dispersion from fluid flow. *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1975, 7, 621-622 (In Ukrainian).
6. Gvozdyak PI, Chekhovskaya TP Electrorretention of microorganisms. *Mikrobiologiya*. 1976, 45(5), 897-901 (in Russian).
7. Nikonenko VU, Bashkirova ND, Dobrovolskaja GM, Gvozdyak PI Electrorretention of the nuclear polyhedrosis virus of *Galleria mellonella*. *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1978, B. 6, 557-558 (In Ukrainian).
8. Gvozdyak PI, Chekhovskaya TP, Grebenyuk VD, Koshechkina LP, Rotmistrov M.N. Removal of microorganisms from water by electrofiltration. *Actual questions of sanitary microbiology*. Moscow, 1973, 118 (in Russian).
9. Kurilenko OD, Bazhal IG, Grebenyuk VD, Duhin SS, Gvozdyak PI. Problems of Electrofiltration of liquids. *Visnyk Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1975, 3, 29-36 (In Ukrainian).
10. Chekhovskaya TP Electrorretention of microorganisms in water purification. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. tekhn. nauk*, Kiev, 1984, 17 (in Russian).
11. Sobolevskaya TT Influence of salts and colloids on the process of electrochemical regeneration of ionites. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. khim. nauk*, Kiev, 1975, 24 (in Russian).
12. Skubko TP Removal of microorganisms and pathogens from the water in the production of injection solutions. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. biol. nauk*. Kiev, 1982, 17 (in Russian).
13. Strizhak NP Research in the branch of the electrofiltration of suspensions *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. khim. nauk*, Kiev, 1981, 23 (in Russian).
14. Verbich SV Electromembranes of dispersed particles. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni kand. khim. nauk*, Kiev, 24 (in Russian).
15. Gvozdyak PI The study of microbial destruction of synthetic nitrogen-containing substances and electrorretention of microorganisms in connection with water purification. *Avtoref. diss. na soiskanie uchon. stepeni doctora biolog. nauk*, 1976, 34 (in Russian).



16. Gvozdyak PI, Gavrish OG, Chekhovskaya TP Emission of prodigiosin from *Serratia marcescens* at the electroretention. *Doklady Akademii nauk USSR*. 1981, 261( 1), .214-215 (in Russian).
17. Gvozdyak PI, Mogilevich NF, Rotmistrov MN Concentration of the protein solutions in a nonuniform electric field. *Doklady Akademii nauk USSR*. 1974, 218(4), 970-971 (in Russian).
18. Gvozdyak PI, Mogilevich NF, Poberezhets ZM, Gvozdyak RI, The method derive products of enzymatic reactions. *USSR Patent 526623*, 30.08.76 (in Russian).
19. Gvozdyak PI, Rotmistrov MN, Mogilevich NF Immobilized enzymes *Visnyk Akademii nauk Ukrainkoji RSR*, 1979, 43( 5) 52-60(In Ukrainian).
20. Furusaki Sh, Nobuhiro A. Enzyme immobilization by the Coulomb force. *Biotechnology and Bioengineering*, 1983, 25( 9), 2209-2219.
21. Gvozdyak PI The behavior of microbial cells during suspension movement in an inhomogeneous electric field *Doklady Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1975, Б. 3, 254-257 (In Ukrainian).
22. Gvozdyak P1, Garbara SV, Chehovska TP, Minchenko VV, Voronkova RM. Effect of temperature montmorillonite firing on its interaction with microbial cells. *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR.*, 1975, Б 10, 905-908 (In Ukrainian).
23. Gvozdyak P1, Garbara SV, Chehovska TP, Rotmistrov MN, About the interaction of microbial cells with the polarized materials. *Mikrobiologiya*, 1977, 46( 1), 118 –122 (in Russian).
24. Perfilev BV Microzonal structure of lacustrine deposits of silt and methods of its research. Leningrad: Nauka, 1972, 216 (in Russian).
25. Gvozdyak PI, Mogilevich NF, Nikonenko VU Electroretention of microorganisms and biological macromolecules. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 1977, 13( 2), 295-299 (in Russian).
26. Gvozdyak PI, Mogilevich NF, Nikonenko VU Electroretention of enzymes // *Dopovidi Akademii nauk Ukrainkoji RSR*. 1977, Б 5, 436-438 (In Ukrainian).

Стаття надійшла до редакції 26.06.2016 р.

