

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРИРОДЫ НОСИТЕЛЯ НА КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИММОБИЛИЗОВАННОГО ФЕРМЕНТА

Юшкова Е.Д., Назарова Е.А., Прокопенко Е.А.

Национальный исследовательский университет ИТМО, г. Санкт-Петербург, Россия

Научный руководитель – д.х.н., доцент Кривошапкин П.В.

Национальный исследовательский университет ИТМО, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Правильный выбор носителя для иммобилизации ферментов влияет на эффективность иммобилизации, каталитические свойства биомолекул и их стабильность. В данной работе в качестве подложек были использованы материалы на основе кордиерита и кварца. Изучены зависимости активности фермента, иммобилизованного методом адсорбции, от количества циклов работы при различной температуре.

Иммобилизованные ферменты – гетерогенные катализаторы, которые можно легко отделить от реакционной среды. Они позволяют останавливать реакцию в любое время, получать более чистый продукт, но главное преимущество – это возможность их повторного использования в технологическом процессе. Их часто применяют в самых разных областях промышленности, включая фармацевтику, медицину, биотехнологию и другие сферы. В пищевой промышленности они также имеют большое значение в производстве сиропов, кондитерских изделий, алкогольных и фруктовых напитков, дрожжей для выпечки [1]. Немаловажным является и молочный сектор, где иммобилизованные ферменты используют для получения безлактозных продуктов [2].

Каталитические свойства фермента зависят от многих факторов, среди которых одним из главных является правильный выбор носителя для иммобилизации. В качестве носителей могут выступать различные материалы. Все они должны быть нетоксичными, биосовместимыми, обладать высоким сродством к белкам и термостабильностью. Также важными характеристиками являются легкость регенерации и возможность использования в технологическом процессе пищевой промышленности, что подразумевает под собой химическую стабильность, устойчивость к действию микроорганизмов и другие факторы [3].

Одними из перспективных материалов для иммобилизации фермента являются керамические мембраны, представляющие собой пористые материалы для работы в режимах микро- и ультрафильтрации, которые применяются для разделения жидкостей. Они обладают высокой устойчивостью к жестким условиям эксплуатации, отличной термической, механической и химической стабильностью. Важным преимуществом является возможность их многократного применения [1]. В качестве материала мембраны используется дешевое минеральное сырье (например, кварц и кордиерит), что в разы снижает ее стоимость. Ферментные керамические мембраны выполняют одновременно несколько функций: биокаталитическую, стабилизирующую и разделительную [3].

Целью данной работы является сравнение двух носителей (на основе кварца и кордиерита) для иммобилизации лактазы и изучение влияния их природы на каталитические свойства фермента.

В качестве метода иммобилизации была выбрана физическая адсорбция, которая является наиболее простой в реализации и обеспечивает сохранение конформации молекулы фермента. Иммобилизация фермента была проведена путем выдерживания носителей в растворе лактазы с последующим удалением незакрепившегося фермента из подложки.

Для определения активности лактазы был использован фотокolorиметрический метод с применением синтетического субстрата – *o*-нитрофенил- β -галактопиранозид. По итогам эксперимента были получены зависимости изменения активности фермента от числа циклов его использования при различной температуре. Было обнаружено, что фермент в большем

количестве адсорбируется на кварцевой керамике, чем на кордиеритовой, что может быть объяснено структурой материала. В обоих случаях выявлено, что фермент остается активным на протяжении не менее 6-и циклов его использования, а оптимальной температурой, при которой он лучше всего сохраняет свои каталитические свойства при многократном использовании, является 45 °С.

Примененная в работе методика иммобилизации ферментов на керамических структурах различной природы может быть расширена на другие ферменты гликозидазного ряда и внедрена на предприятия пищевой промышленности для усовершенствования технологических процессов биокатализа.

Работа выполнена в рамках научного проекта №МК-1632.2020.11 по гранту Президента РФ.

Список использованных источников:

1. Mohamad N. R., Marzuki N. H. S., Buang N. A., Huyop F., Wahab R. A. An Overview of Technologies for Immobilization of Enzymes and Surface Analysis Techniques for Immobilized Enzymes // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. – 2015. – V. 29(2). – P. 205–220.
2. Di Serio M., Maturo C., De Alteriis E. Lactose hydrolysis by immobilized β -galactosidase: the effect of the supports and kinetics // *Catalysis today*. – 2003. – V. 79-80. – P. 333–339.
3. Sigurdardóttir S.B. et al. Enzyme immobilization on inorganic surfaces for membrane reactor applications: Mass transfer challenges, enzyme leakage and reuse of materials // *Advanced Synthesis & Catalysis*. – 2018. – V. 360. – P. 2578–2607.