

**МАГНИТНЫЕ НАНОКОМПОЗИТЫ
С ПОВЫШЕННОЙ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬЮ ДЛЯ ГИДРОЛИЗА КРАХМАЛА**

Шаповалова О.Е. (Университет ИТМО), Дроздов А.С. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – профессор, доктор химических наук, Виноградов В.В.
(Университет ИТМО)

Введение. Амилазы (Е.С.3.2.1.1) представляют собой ферменты, которые катализируют гидролиз внутренних 1,4-гликозидных связей в крахмале в низкомолекулярные продукты, такие как глюкоза, мальтоза и мальтотриозные единицы [1]. Амилазы имеют большое значение для биотехнологии, представляя собой класс промышленных ферментов, на долю которых приходится примерно 25% мирового рынка ферментов [1, 2]. Несмотря на все преимущества, существует ряд ограничений при использовании данных ферментов. А именно, такие биокатализаторы чувствительны к повышенным температурам, рН и сильным химическим веществам, а также промышленная α -амилаза требует очистки и иммобилизации для повышения ее активности и возможности повторного использования, что является серьезной проблемой, поскольку все эти методы требуют сложного оборудования, которое является довольно дорогостоящим, а также существует высокая вероятность того, что фермент может потерять свою биологическую активность во время этого [3]. Поэтому выбор материала-носителя может оказать решающее влияние на стабильность и эффективность иммобилизации фермента.

На сегодняшний день существует разнообразие наноструктурированных материалов для иммобилизации ферментов, включая как органические, так и неорганические, такие как пористые полимерные матрицы, частицы полистирола, фосфолипидные липосомы, цеолиты, оксиды металлов, кремнеземные матрицы и т.д. [4, 5]. Среди всех ферментативных наноконструкций значительное внимание уделяется наноконструкциям с магнитными свойствами. Чувствительность к магнитному полю выявила механизм эффективного восстановления ферментативного комплекса, тем самым предотвращая загрязнение конечного продукта ферментативным катализатором. Магнитные ферментативные катализаторы в основном представлены либо структурами типа ядро-оболочка, либо полимерными матрицами с инкапсулированными магнитными наночастицами и, как известно, являются эффективными системами с хорошими результатами применения [6-8]. Несмотря на эффективность, магнитные композиты обладают одним общим недостатком, заключающимся в их сложной структуре, которая включает магнитное ядро, фермент и связующий агент. Такая многокомпонентная структура требует многоступенчатых процедур синтеза с промежуточных стадий очистки, приводящих к более высоким производственным затратам, которые могут свести на нет практическое преимущество таких систем.

Основная часть. Для решения проблем, описанных выше, был предложен способ создания магнитного композита, обладающего α -амилазной активностью, состоящего всего из двух компонентов: α -амилазы и магнетитовой керамической матрицы. Материал получали путем прямого энтрапирования фермента в магнетитовый ксерогель в процессе золь-гель-перехода при комнатной температуре. Для гибридных органо-неорганических композитов с массовой долей фермента менее 10 мас. % выщелачивания фермента не наблюдалось. При 80 °С композит α -амилаза@магнетит проявлял каталитическую активность на уровне 10 ед/мг и скорость гидролиза крахмала, сравнимую со свободным ферментом, а при 90 °С активность α -амилаза@магнетит была в 2 раза выше, чем у свободной α -амилазы. Энтрапированная α -амилаза показала превосходную стабильность и потеряла только 9% своей активности через 21 день хранения в буферном растворе, в то время как свободный фермент полностью инактивировался через 17 дней.

Выводы. Был получен магнитный биоконкомпозит α -амилаза@магнетит с повышенной термостабильностью и длительным сроком хранения, который можно использовать либо в качестве многофазового катализатора с магнитным разделением, либо в качестве каталитического керамического покрытия в реакторах периодического или проточного действия с не менее чем 10 циклами использования.

Список использованных источников:

1. Rajagopalan G., Krishnan C. α -Amylase production from catabolite derepressed *Bacillus subtilis* KCC103 utilizing sugarcane bagasse hydrolysate // *Bioresource technology*. – 2008. – Т. 99. – № 8. – С. 3044-3050.
2. Reddy N. S., Nimmagadda A., Rao K. R. S. S. An overview of the microbial α -amylase family // *African journal of biotechnology*. – 2003. – Т. 2. – № 12. – С. 645-648.
3. Souza P. M., Magalhães P. O. Application of microbial α -amylase in industry-A review // *Brazilian journal of microbiology*. – 2010. – Т. 41. – С. 850-861.
4. Garcia-Galan C. et al. Potential of different enzyme immobilization strategies to improve enzyme performance // *Advanced Synthesis & Catalysis*. – 2011. – Т. 353. – № 16. – С. 2885-2904.
5. Sanchez C. et al. Applications of advanced hybrid organic–inorganic nanomaterials: from laboratory to market // *Chemical Society Reviews*. – 2011. – Т. 40. – № 2. – С. 696-753.
6. Zhou L., Yuan J., Wei Y. Core–shell structural iron oxide hybrid nanoparticles: from controlled synthesis to biomedical applications // *Journal of materials chemistry*. – 2011. – Т. 21. – № 9. – С. 2823-2840.
7. Safarik I. et al. Magnetically modified agricultural and food waste: preparation and application // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2018. – Т. 66. – № 11. – С. 2538-2552.
8. Talekar S. et al. Recyclable enzymatic recovery of pectin and punicalagin rich phenolics from waste pomegranate peels using magnetic nanobiocatalyst // *Food Hydrocolloids*. – 2019. – Т. 89. – С. 468-480.