

МАГНИТНО-ИММОБИЛИЗОВАННАЯ БЕТА-ГЛЮКОЗИДАЗА: ОЦЕНКА КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И РЕЦИКЛИРУЕМОСТИ

Кутявин К. С.^{1,2}

Научный руководитель – канд. биол. наук, Селиханов Г. К.¹

¹Университет ИТМО

²Альметьевский Государственный Технологический Университет ВШН

aprgen2@mail.ru

Введение

В настоящее время многие технологические процессы получения органических соединений проходят с использованием микроорганизмов и их ферментов, ускоряющих реакции. Однако в рамках индустрии, ферменты используются всего один раз, после чего они удаляются с отходами или являются нежелательной примесью в растворе с целевым продуктом [1].

Для производства биотоплива и в пищевой промышленности используют β -глюкозидазы - ферменты, катализирующие гидролиз β -D-гликозидных связей, играющие ключевую роль в расщеплении целлюлозного сырья до глюкозы, что является лимитирующей стадией ферментативного гидролиза [2, 3]. Хотя этот фермент и является крайне важным для получения глюкозы, он не выделяется для повторного использования и остается в растворе, что негативно сказывается на чистоте и стоимости конечного продукта.

Основная часть

Иммобилизация белков, в том числе и ферментов, является известным подходом для повышения их стабильности и обеспечения повторного использования [4]. К сожалению данный метод редко применяется на производственных масштабах, поэтому важным аспектом для нас являлся выбор матрицы для иммобилизации, обеспечивающего сохранение каталитической активности и удобство отделения от реакционной среды, в том числе и на существующих производствах. Нами были выбраны магнитные наночастицы, которые могут быть легко извлечены из общего объема при помощи внешнего магнитного поля [5].

Выводы

Была проведена иммобилизация β -глюкозидазы в водной среде при комнатной температуре. Подобрана методика, обеспечивающая селективное связывание целевого фермента с поверхностью наночастиц. Показано, что фермент не диссоциирует в условиях проведения реакции, а также сохраняет связанное состояние при кратковременном нагревании до 100 °С. Массовая ёмкость матрицы составила 1:4 (фермент:носитель).

Активность иммобилизованной β -глюкозидазы при гидролизе целлобиозы (5 мг/мл, 50 °С, 5 мин) составила 81,7% от активности нативного фермента. При гидролизе древесной муки (берёза, щелочно-этанольная предобработка, 50 °С, 48 ч) активность достигала 68,9% от нативной формы. Падение активности при гидролизе древесного субстрата связано с тем, что гидролизуемое сырьё является нерастворимым, из-за чего появляются ограничения с доступностью активного центра к субстрату. Чтобы нивелировать ограничения, необходимо обеспечивать хорошее перемешивание и гомогенность. Несмотря на частичную потерю активности, иммобилизованная форма демонстрировала повышенную термостабильность и устойчивость при хранении в буферном растворе (Na-Ac 0,1 М, pH 5,0).

Показана возможность многократного использования иммобилизованного фермента. После 8 циклов гидролиза остаточная активность составляла около 70%.

Магнитные наночастицы легко отделяются от реакционной смеси, что обеспечивает эффективный рециклинг фермента и снижение затрат на его закупку.

Таким образом, иммобилизация β -глюкозидазы на магнитные наночастицы является перспективным направлением для создания рециклинговых ферментных систем в процессах переработки лигноцеллюлозного сырья. Реализация данной технологии позволяет повысить стабильность фермента, упростить очистку продукта и обеспечить экономическую эффективность биотехнологического процесса.

Литература

1. Sørensen, A.; Lübeck, M.; Lübeck, P.S.; Ahring, B.K. Fungal Beta-Glucosidases: A Bottleneck in Industrial Use of Lignocellulosic Materials. *Biomolecules* 2013, 3, 612-631. <https://doi.org/10.3390/biom3030612>
2. Singh, G., Verma, A.K. & Kumar, V. Catalytic properties, functional attributes and industrial applications of β -glucosidases. *3 Biotech* 6, 2016, 3. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0328-z>
3. Teugjas, H., Våljamäe, P. Selecting β -glucosidases to support cellulases in cellulose saccharification. *Biotechnol Biofuels* 6, 2013, 105. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-105>
4. Alvarez-Gonzalez, C.; Santos, V.E.; Ladero, M.; Bolivar, J.M. Immobilization-Stabilization of β -Glucosidase for Implementation of Intensified Hydrolysis of Cellobiose in Continuous Flow Reactors. *Catalysts* 2022, 12, 80. <https://doi.org/10.3390/catal12010080>
5. Кутявин К. С., Пугачева А. С., Коляденко И. А., Селиханов Г. К., Орипова А. А. Использование наночастиц с магнитными свойствами для создания рециклинговой формы бета-глюкозидазы // *ХИМБИОSEASONS* 2025. — Кемерово : КемГУ, 2025. — С. 77

Автор _____ Кутявин К.С.

Научный руководитель _____ Селиханов Г.К.