

способностью, четыре изолята (С1, С8, Т1, F1) средней, а штаммы С1 и S1 – очень высокой.

Морфологическая характеристика лучших пленкообразователей позволила установить, что бактерии штамма S1 представлены грамположительными палочками, одиночными и в парах, неспорообразующими, способными к движению. Клетки штамма С1 имеют сферическую форму, грамположительные, формирующие скопления в виде коротких цепочек, неподвижные, неспорообразующие.

Отобранные штаммы активных пленкообразователей будут использованы в исследовании антибактериальных свойств биоцидных препаратов, чье действие направлено на биопленки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. <https://cyberleninka.ru/article/v/mikrobnye-bioplennki-problemy-antibiotikoterapii>
2. [http://kpfu.ru/portal/docs/F1250326711/posobie.\\_Bioplennki.\\_Mardanova.AM.Kabanov.D.A..Sharipova.M.R.pdf](http://kpfu.ru/portal/docs/F1250326711/posobie._Bioplennki._Mardanova.AM.Kabanov.D.A..Sharipova.M.R.pdf)- с. 5

УДК 547.281

Студ. В.В. Амброжевич

Науч. рук. зав. кафедрой В.Н. Леонтьев  
(кафедра биотехнологии и биоэкологии, БГТУ)

### **ФЕРМЕНТАТИВНАЯ КИНЕТИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ КЕТОНОВ**

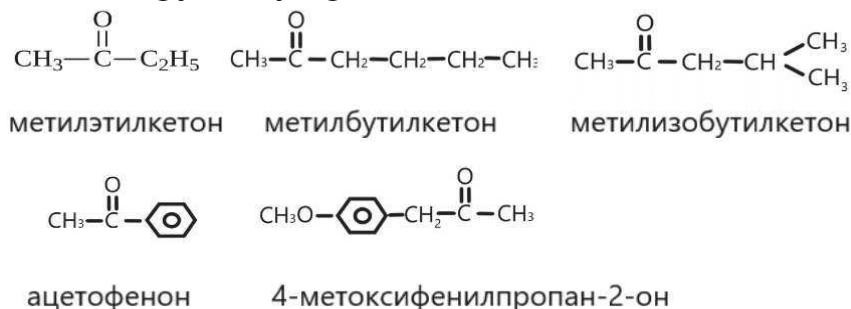
Цель работы: изучение кинетики восстановления кетонов для получения оптически активных спиртов – исходных соединений для создания новых жидкокристаллических систем.

Так как химическим синтезом получают только рацемические смеси, пришлось обратиться к ферментативному катализу. Подвергая действию ферментов несимметричные кетоны можно получить оптически активные спирты. Структурные формулы используемых кетонов приведены на рисунке 1.

Для работы использовали 4 штамма дрожжей: *Saccharomyces cerevisiae* пекарские, *S. cerevisiae* 221, *S. cerevisiae* 54, *Rhodotorula glutinis* 167.

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* – непатогенные одноклеточные микроорганизмы с диаметром клетки примерно 5 мкм. Их генетика, молекулярная биология и метаболизм детально изучены. *S. cerevisiae* размножаются почкованием и хорошо растут на простых

питательных средах. Они являются наиболее удобной моделью для исследования других эукариот.



**Рисунок 1 – Структурные формулы используемых кетонов**

Дрожжи *Rhodotorula glutinis* используются в заводских условиях по производству каротиноидов и в качестве агентов биоконтроля для послеуборочной порчи болезни плодов.

Восстановление кетонов происходит только в присутствии фермента алкогольдегидрогеназы. Для получения ферментного препарата дрожжи, выращенные на плотной питательной среде, бактериологической петлей переносим в эппендорфную пробирку, заполненную 1,5 мл буферного раствора, в которую помещены металлические шарики диаметром 0,3-0,5 мм и проводят встряхивание на специальном аппарате Вортекс в течение 3 минут. Полученную суспензию центрифугируем 5 минут при 6000 мин<sup>-1</sup>. В полученном ферментном препарате определяем концентрацию белка методом Варбурга-Христиана и используем его для восстановления кетонов.

В ходе эксперимента в спектрофотометрическую кювету помещаем реакционную смесь: -2,5 мл фосфатного буфера (рН 8,5); -0,1 мл кетона; -0,1 мл ферментного препарата.

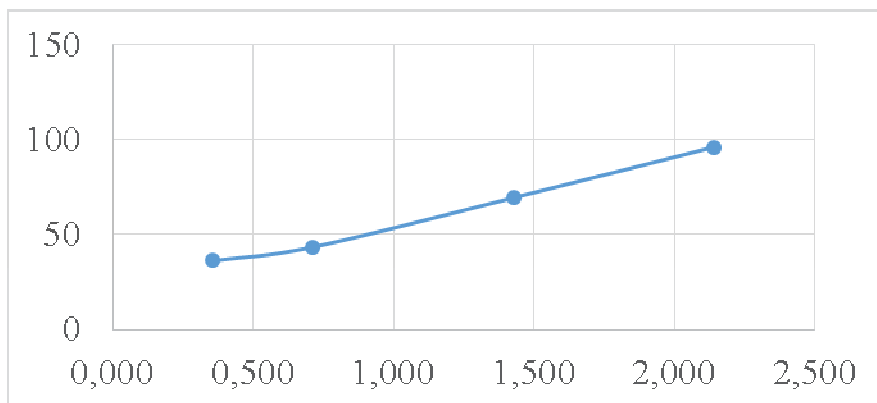
Реакцию запускаем 0,1 мл раствора NADH (C = 1 · 10<sup>-2</sup> моль/л). Общий объем пробы составляет 2,8 мл. В содержимом кюветы при постоянном перемешивании и температуре 20 °С измеряем увеличение экстинкции раствора при 340 нм в течение 2 – 10 минут на спектрофотометре Specord 200 plus с помощью специальной кинетической программы. С помощью программного обеспечения прибора проводим расчет величины начальной скорости реакции – тангенса угла наклона касательной к кинетической кривой в нулевой точке (изменение экстинкции в минуту E/S).

Величину удельной активности АДГ вычисляем по формуле:

$$A = \frac{S}{E \cdot c \cdot \varepsilon \cdot l \cdot 10^{-3}}$$

где  $A$  – удельная активность АДГ, нмоль/(мин·мг белка);  $E/S$  – изменение экстинкции в единицу времени, мин<sup>-1</sup>;  $C$  – концентрация белка, мг/мл;  $\epsilon$  – коэффициент молярной экстинкции НАДН;  $l$  – толщина кюветы, см.

В качестве примера на рисунке 2 представлена зависимость активности фермента (нмоль/мг·мин) *Saccharomyces cerevisiae* пекарские при восстановлении метилбутилкетона от концентрации кетона (ммоль).



**Рисунок 2 – Зависимость активности фермента от концентрации субстрата**

В заключении можно сделать вывод о том, что восстановление кетонов происходит для всех изученных субстратов ферментными системами всех изученных дрожжей.

В дальнейшем планируется определить энантиомерный избыток образовавшихся спиртов и разработать технологический регламент получения оптически активных спиртов с целью их использования в качестве исходных компонентов новых жидкокристаллических систем.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Шакиров, А.Н. Энантиоселективное восстановление карбонильных соединений с помощью дрожжей *Pichia fermentans* 87-9 / А.Н. Шакиров, Н.И. Петухова, В.В. Зорин // Башкирский химический журнал. – 2013. – Т. 20, № 4. – С. 59–68.
2. Василенко, И.А. Оптические изомеры в фармацевтике / И.А. Василенко, М.В. Лебедев, В.А. Листров // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2015. – № 1. – С. 92–97.
3. Микробиологическая трансформация алифатических кетонов / А.Н. Шакиров [и др.] // Башкирский химический журнал. – 2012. – Т. 19, № 2. – С. 71–77.
4. Халгаш, Я. Биокатализаторы в органическом синтезе / Я. Халгаш. – М.: Мир, 1991. – 204 с.