

Л. А. Жуковская, ст. науч. сотр., канд. биол. наук,
Т. В. Семашко, вед. науч. сотр., канд. биол. наук;
О. Д. Демешко, науч. сотр.
(Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск)

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТОВ ГЛЮКОЗООКСИДАЗ *PENICILLIUM ADAMETZII*, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОЧИСТКИ

Микробиологическое производство биологически активных веществ и микробных препаратов является важным направлением промышленной биотехнологии. Особое место среди метаболитов микроорганизмов занимают ферменты – специфические катализаторы белковой природы, незаменимые в различных отраслях промышленности, сельского хозяйства, медицине, а также в экологии [1].

Глюкозооксидаза (ГО) (β -D-глюкозо: O₂-1-оксидоредуктаза, КФ 1.1.3.4.) – фермент класса оксидоредуктаз, катализирующий окисление β -D-глюкозы до β -D-глюконолактона и пероксида водорода. Фермент широко используется в пищевой промышленности [2], медицине, а также химической промышленности [3].

Цель работы – получить препараты ГО *Penicillium adametzi* различной степени очистки, определить свойства ферментов.

Для получения препаратов ГО в качестве продуцента использовали *Penicillium adametzii*. Гриб выращивали на жидкой питательной среде оптимизированного состава. По окончании культивирования биомассу гриба отделяли фильтрованием, а полученный фильтрат культуральной жидкости концентрировали и очищали методами ультрафильтрации, высаливания, ионнообменной хроматографии.

При ультрафильтрации применяли комплекты ультрафильтрационного оборудования (ультрафильтрационная лабораторная установка на базе полуволоконного мембранного элемента МПВЭ ПС-10М-0,2 (Минск, РБ) и ячейку ФМ02-400 (мембранный фильтр с радиальным перемешиванием) (Кириши, РФ). Высаливание проводили в объеме с использованием серноокислого аммония. Осадок отделяли центрифугированием, растворяли в воде. Отмывку от соли проводили методом ультрафильтрации. Очистку методом ионообменной хроматографии осуществляли на колонках (1×11,0 см) с использованием в качестве сорбента карбоксиметилцеллюлозу (Германия).

Полученные препараты ГО незначительно различались по удельной активности (85,3, 92,7 и 97,2 ед/мг белка, соответственно) (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика препаратов ГО *P. adametzii*

Препарат	Активность фермента, ед/мл	Удельная активность фермента, ед/мг белка	Степень очистки
Фильтрат культуральной жидкости	6,3	69,4	–
Препарат ГО, полученный методом ультрафильтрации	1232,9	85,3	1,23
Препарат ГО, полученный методом высаливания	1198,5	92,7	1,34
Препарат ГО, полученный методом ионнообменной хроматографии	1162,8	97,2	1,40

Установлено, что данные ферменты сходны по спектральным характеристикам, но различались по эффективности окисления глюкозы – $13577-15217 \text{ M}^{-1}\text{c}^{-1}$ (таблица 2).

Таблица 2 – Спектральные и каталитические характеристики ферментных препаратов

Препарат	Спектр поглощения		Сродство фермента к субстрату, Km (mM)	Эффективность окисления глюкозы, kkat/Km ($\text{M}^{-1}\text{c}^{-1}$)
	375 нм	455 нм		
Препарат ГО, полученный методом ультрафильтрации	0,3619	0,2205	15,2	14 578
Препарат ГО, полученный методом высаливания	0,3891	0,2848	15,8	13 557
Препарат ГО, полученный методом ионнообменной хроматографии	0,3699	0,3387	16,3	15 217

Анализ физико-химических свойств (термо-, рН-оптимумы, термо-, рН-стабильность) ГО, полученных различными методами очистки показал, что максимальная активность ферментов проявляется в области значений рН 4,0-7,0 (пики 5,0 и 7,0) и диапазоне температур 50-70 °С. Показано, что ферменты более стабильны в течение 24 ч при значениях рН 4,0-7,0, остаточная активность составляет 82-100,0 %.

Значительные отличия отмечены по показаниям термостабильности ферментов. Так, при 40 °С ферменты, полученные методами высаливания и ультрафильтрации, сохраняли 95-97 % активности, а фермент, полученный методом ионообменной хроматографии – 91 %. Максимальные отличия между ферментами наблюдались при 60 °С (активность сохранялась на 59 %, 53 %, 40 % соответственно).

Таким образом, с использованием различных методов (ультрафильтрации, ионнообменной хроматографии, высаливания) получены

опытные образцы ферментных препаратов ГО с удельной активностью 85,3-92,7 ед/мг белка. Основные отличия свойств отмечены по показаниям термостабильности ферментов.

Работа выполнена в рамках проекта Б19АРМ-018, финансируемого БРФФИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Glucose oxidase – an overview / S.B. Bankar [et al.] // *Biotechnol. Adv.* – 2009. – Vol. 27. – P. 489-501.
2. Uppor, R., Niebergall, P., James, E. The antioxidant system β -D(+)-glucose-glucose oxidase-catalase: tests for pyrogenicity and antigenicity / R. Uppor, P. Niebergall, E. James // *Pharm. Dev. Technol.* – 2001. – Vol. 6. – P. 31-38.
3. Wong, Ch.M., Wong, K.H., Chen, X.D. Glucose oxidase: natural occurrence, function, properties and industrial applications / Ch.M. Wong, K.H. Wong, X.D. Chen // *Appl. Microb. Biotechnol.* – 2008. – Vol. 78. – P. 927-938.

УДК 655.22

А. В. Криховец, доц., канд. хим. наук;

В. Г. Слободяник, ст. преп., канд. техн. наук (УАП, г. Львов, Украина)

УПАКОВОЧНЫЕ ПЛЕНКИ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА

Одно из важных мест в современной упаковочной индустрии занимают пленочные материалы, объёмы производства которых возрастают ежегодно. Это в свою очередь приводит к увеличению количества бытовых отходов. Загрязнение почвы и вод мирового океана отходами пластика приобрели угрожающих масштабов. Поэтому усилия ученых направлены на поиски новых материалов для изготовления упаковки, способной разлагаться в естественной среде в короткий промежуток времени.

В качестве биодegradабельных упаковочных материалов находят широкое применение пленки на основе поливинилового спирта. Эти пленочные материалы владеют высокими барьерными свойствами и могут использоваться в пищевой отрасли, медицине, химической промышленности. С целью улучшения функциональных характеристик и расширения областей применения разрабатываются разнообразные композитные материалы на основе ПВС. Перспективными среди них являются поиски экологических пленочных материалов с бактерицидными свойствами.