

К. К. Назаров, доц., канд. биол. наук;
М. М. Рахимов, стажёр-исследователь;
Ж. М. Тоштемирова, ассист.
(ТГТУ, г. Ташкент)

ИЗУЧЕНИЕ ГИДРОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ХЛОПКОВОМ ВОЛОКНЕ

Для промышленного ферментативного гидролиза целлюлозосодержащего сырья обычно используются целлюлазные комплексы ферментов из ряда бактерий и грибов [1]. К ферментам целлюлазного комплекса относятся эндо- β -1,4 глюканызы (КФ 3.2.1.4), экзоцеллобиогидролазы (КФ 3.2.1.91), а также β - глюказаидазы (КФ 3.2.1.21), [2; 3]. В последнее время целлюлазные комплексы ферментов находят все более широкое применение в текстильной, целлюлозно-бумажной, пищевой и других отраслях промышленности.

Мы в нашей работе изучили возможность использования для ферментативного гидролиза хлопковой целлюлозы три коммерческих ферментативных комплекса: целловиридина ГЗх, пектофоедина ГЗх и пектиназы 500.

Целлюлазный препарат из *Trichoderma viride* - целловиридин ГЗх производства Привожского биохимического завода с активностью 83 ед./гр. по С активности, 65 ед./г. по эндоглюканызе и 3000 ед./г. по целлобиазе.

Пектиназный препарат *Aspergillus foetidus* - пектофоедин ГЗх производства Привожского биохимического завода с пектолитической активностью 90 ед./г. и 37 ед./гр. по целлобиазе .

Пектиназный препарат из *Aspergillus foetidus* «Пектиназа» 500 производства Московского опытно-промышленного завода ферментных препаратов, с пектолитической активностью 800 ед./г и целлобиазной активностью 3200 ед./г (фактические данные).

При массовом тестировании ферментных препаратов или разновидностей целлюлозосодержащего сырья обычно активность определяется по «одной точке», т.е. при определенных концентрациях субстрата и ферментного препарата, температуре, составе и рН среды, времени проведения гидролиза. Чтобы установить эти оптимальные характеристики проводится предварительное исследование гидролиза данным ферментным комплексом на данном субстрате. Кроме того, при определении активности ферментного препарата с использованием нерастворимой целлюлозы, каким является хлопковое волокно,

необходимо учитывать возможную нелинейную зависимость начальной скорости гидролиза целлюлозы от концентрации субстрата.

Мы провели сравнительное определение активности трех полиферментных препаратов по отношению к хлопковому волокну хлопчатника сорта Ф-108, которую определяли по образованию глюкозы и восстанавливающих сахаров методом Шомоди – Нельсона [3]. За единицу активности принимали количество фермента, которое приводит к образованию 1 мкМ ВС за 1 мин из соответствующего субстрата. На рисунках 1 и 2 представлены результаты этих экспериментов, из которых видно, что наиболее активной оказалась смесь целловеридина ГЗх и пектофоетидина ГЗх в соотношении 3:1. Эту смесь мы использовали во всех дальнейших наших экспериментах.

Для подбора оптимальных параметров гидролиза были проведены эксперименты по гидролизу при различных рН среды и температуры. Как видно из рисунка 1, наиболее быстро гидролиз проходил при рН среды = 5,0 и при температуре 55–60 °С.

Начальная скорость ферментативного гидролиза существенно зависит от степени адсорбции ферментов на субстрате. В ряде случаев начальную скорость реакции можно увеличить добавляя поверхностно активные вещества (ПАВ), которые увеличивают смачиваемость целлюлозы, а соответственно и биодоступность её для ферментов.

Таким образом, в данном разделе были определены: оптимальное соотношение 3:1 композиции ферментных препаратов целловеридина ГЗх и пектофоетидина ГЗх, оптимальные рН=5,0 и температура 55°С, 0,5% концентрация тритона Х-100.

Эти результаты были использованы при изучении особенностей ферментативного гидролиза волокна из различных линий хлопчатника.

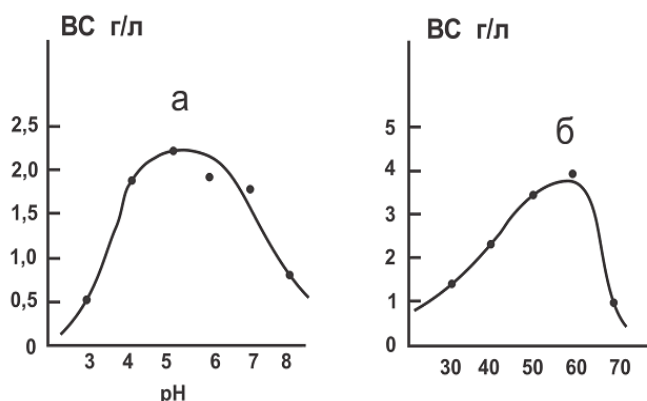
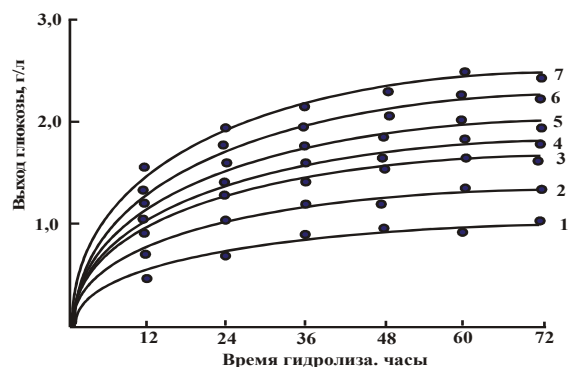
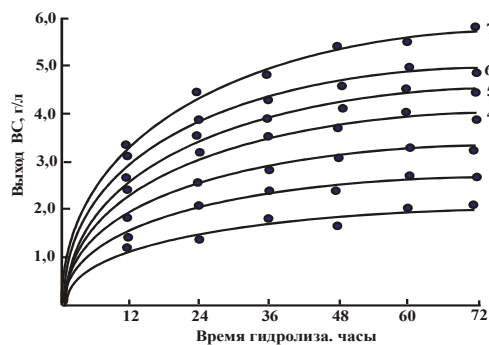


Рисунок 1 - Зависимость активности целлюлаз от рН среды (а) и температуры (б). Смесь ферментов целловеридина ГЗх и пектофоетидина ГЗх в соотношении 3:1. Субстрат хлопковое волокно сорта Ф-108. Время гидролиза 12 часов



1 – пектиназа 500; 2 – пектофоетидинГЗх; 3 – целловеридинГЗх; 4 – целловеридинГЗх и пектофоетидинГЗх в соотношении 1 : 1; 5 – целловеридинГЗх и пектофоетидинГЗх в соотношении 2 : 1.; 6 – целловеридинГЗх и пектофоетидинГЗх в соотношении 4 : 1; 7 – целловеридинГЗх и пектофоетидинГЗх в соотношении 3 : 1
Рисунок 2 – Выход глюкозы (г/л) при ферментативном гидролизе волокон хлопчатника сорта Ф-108 с помощью различных ферментных препаратов: целловиридинаГЗх, пектофоединаГЗх и пектиназы 500 в различном соотношении



1 – пектиназа 500; 2 – пектофоетидинГЗх; 3 – целловеридин ГЗх; 4 – целловеридин ГЗх и пектофоетидинГЗх в соотношении 1 : 1; 5 – целловеридин ГЗх и пектофоетидин ГЗх в соотношении 2 : 1; 6 – целловеридинГЗх и пектофоетидин ГЗх в соотношении 4 : 1; 7 – целловеридин ГЗх и пектофоетидин ГЗх в соотношении 3 : 1
Рисунок 3 – Выход восстанавливающих сахаров (ВС) (г/л) при ферментативном гидролизе волокон хлопчатника сорта Ф-108 с помощью различных ферментных препаратов: целловиридина ГЗх, пектофоедина ГЗх и пектиназы 500 в различном соотношении

ЛИТЕРАТУРА

1. Клесов А.А., Сыницин А.П. Ферментативный гидролиз целлюлозы. Влияние физико- химических и структурных факторов субстрата на эффективности ферментативного гидролиза. // Биоорганическая химия. – 1981. – № 12. – С. 1801–1812.
2. Henriksson G. et al. Mechanism of enzymatic hydrolysis of crystal cellulose. // Eur. J. Biochem. – 1999. – № 259. – P. 88–95.
3. Nelson M.I., Kelsey R.G., Shafizaden F. Anhancement enzymatic hydrolyses by Simultaneous attrition of cellulosed Substrates. // Biotechnol and Bioeng. – 1982. – vol 24. – P. 293–294