

УДК 577.325:577.151

АНАЛИЗ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И ИК-СПЕКТРОВ ИНУЛИНАЗЫ, ИММОБИЛИЗОВАННОЙ НА АНИОНООБМЕННОЙ СМОЛЕ АВ-17-2П

© Авторы, 2012

Т.А. Ковалевад.б.н., профессор, кафедра биофизики и биотехнологии, ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет»
E-mail: tamara_kovaleva@inbox.ru**М.Г. Холявка**

к.б.н., вед. биолог, ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет». E-mail: holyavka@rambler.ru

В.Г. Артюховк.б.н., профессор, зав. кафедрой биофизики и биотехнологии, ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет»
E-mail: avg@main.vsu.ru**А.Р. Каюмов**

к.б.н., ассистент, кафедра генетики, Казанский (Приволжский) федеральный университет

Показано, что иммобилизация инулиназы на анионите АВ-17-2П модифицированным глутаральдегидным методом сопровождается незначительным сдвигом констант ионизации карбоксильных групп аспарагиновой и глутаминовой аминокислот и имидазола гистидина. Анализ ИК-спектров свидетельствует о компактизации молекулы фермента, формировании более плотно упакованного гидрофобного ядра по сравнению с нативной формой инулиназы, что, вероятно, является одной из причин снижения каталитической активности препарата после иммобилизации. Полученные данные способствуют выявлению путей регулирования уровня ферментативной активности в ходе процесса иммобилизации.

Ключевые слова: инулиназа, иммобилизация, анионообменная смола АВ-17-2П, ИК-спектроскопия.

It is shown, that immobilization of inulinase on anion exchanger AV-17-2P by modified glutaric dialdehyde method is accompanied by insignificant shift of ionization constants for carboxylic groups of aspartic and glutamic amino acids and imidazole of histidine. The analysis of IR-spectra testifies about compactization of enzyme molecules, formation of more dense packed waterproof kernel in comparison with the native form of inulinase, that, possibly, is one of the reasons for decrease catalytic activity of the preparation after immobilization. Obtained data promote to reveal regulation ways of enzyme activity level during process of immobilization.

Keywords: inulinase, immobilization, anion-exchange resin AV-17-2P, IR-spectroscopy.

В настоящее время одним из широко распространенных продуктов функционального питания является фруктоза. Получение фруктозы из инулина возможно путем кислотного и ферментативного гидролиза. Ферментативный гидролиз предпочтительнее кислотного, так как является экологически более чистым и при этом не образуется побочных продуктов, которые усложняют выделение и очистку фруктозы [1].

Производство фруктозы из крахмала ферментативным путем состоит из нескольких этапов и требует наличия трех различных ферментов: α -амилазы, глюкоамилазы и глюкоизомеразы [2]. При этом получают 45 %-ный фруктозный сироп. В случае применения инулиназы (КФ 3.2.1.7) для расщепления инулинсодержащего сырья в одностадийном процессе получают конечный продукт – 95 %-ный фруктозный сироп.

Иммобилизация переводит фермент из разряда гомогенных растворимых катализаторов в разряд гетерогенных со всеми вытекающими отсюда

технологическими преимуществами: повышение стабильности белковых препаратов по отношению к денатурирующим воздействиям внешней среды, возможность многократного использования биокатализаторов в фармацевтической, пищевой промышленности, а также в аналитических целях. Особое внимание исследователи уделяют проблемам подбора и модификации носителей, разработке методов иммобилизации, изучению закономерностей взаимодействия фермента с матрицей полимерных веществ синтетического и природного происхождения.

Ранее было показано, что после иммобилизации на ионообменной смоле АВ-17-2П инулиназа сохраняет до 75 % первоначальной каталитической активности [3, 4]. Этот ионит соответствует санитарным нормам, удовлетворяет производственным требованиям и используется для концентрирования и очистки пищевых продуктов, в частности сахарных сиропов, в промышленной технологии.