



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.723.2:577.322

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11727

### **Адсорбционная иммобилизация ферментов на альгинатах: свойства и применение препаратов на их основе. Краткий обзор**

**Мария Сергеевна Лавлинская**<sup>1,2✉</sup>,

**Андрей Викторович Сорокин**<sup>1,2</sup>, **Юрий Федорович Зуев**<sup>3</sup>,

**Марина Геннадьевна Холявка**<sup>1,2</sup>, **Валерий Григорьевич Артюхов**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, maria.lavlinskaya@gmail.com✉

<sup>2</sup>Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

<sup>3</sup>Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

**Аннотация.** Несмотря на широкое применение ферментов в различных отраслях промышленности, в первую очередь – в пищевой, кожевенной, фармацевтике, косметологии и биомедицине, их низкая стабильность и отсутствие возможности многократного использования обуславливают ограничения их использования. Иммобилизация ферментов, т.е. ограничение степеней свободы их молекул путем фиксации на каком-либо носителе, может способствовать преодолению этих ограничений. Однако взаимодействия с носителем и техника иммобилизации могут влиять на каталитическую способность энзимов. В настоящей работе мы ставим перед собой цель кратко обобщить информацию о способах иммобилизации ферментов на альгиновой кислоте и ее производных и сфокусироваться на адсорбционной иммобилизации и применении таких иммобилизованных на альгинатах ферментных препаратов. Альгиновая кислота представляет собой неразветвленный гетерогенный сополимер, состоящий из 1,4-связанных остатков  $\beta$ -D-маннуриновой кислоты и  $\alpha$ -L-гулуриновой кислоты. Иммобилизация ферментов на альгинатных носителях часто приводит к улучшению их стабильности и позволяет многократно использовать биокатализаторы. Адсорбция ферментов на матрицах альгиновой кислоты и ее производных является эффективным процессом в плане выхода иммобилизации, т.е. доля адсорбированного на носителе белка часто превышает 50%. Доступность, биосовместимость, устойчивость к микробной контаминации, нетоксичность и низкая стоимость делают этот полисахарид перспективным кандидатом для использования в качестве носителя для ферментов. Кроме того, собственная биологическая активность альгиновой кислоты обеспечивает ее перспективность как компонента для создания биокатализаторов медицинского или пищевого назначения. Композиты, полученные из природного альгината путем и их комбинации с другими материалами как органическими, так и неорганическими, открывают множество новых сфер применения иммобилизованных ферментов. В работе рассмотрены возможности применения иммобилизованных на альгинате или композитах ферментов, широко используемых в пищевой промышленности. В заключительной части статьи представлены основные выводы, а также обсуждены ограничения промышленного применения альгинатных носителей и возможные способы их решения.

**Ключевые слова:** альгиновая кислота, иммобилизация ферментов, носители для иммобилизации.

**Благодарности:** работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-64-10020.

**Для цитирования:** Лавлинская М.С., Сорокин А.В., Зуев Ю.Ф., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Адсорбционная иммобилизация ферментов на альгинатах: свойства и применение препаратов на их основе. Краткий обзор // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 5. С. 924-937. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11727>



Original article

## Adsorption immobilization of enzymes on alginates: properties and use of drugs based on them. Short review

Maria S. Lavlinskaya<sup>1,2</sup>✉, Andrey V. Sorokin<sup>1,2</sup>, Yuriy F. Zuev<sup>3</sup>,  
Marina G. Holyavka<sup>1,2</sup>, Valery G. Artyukhov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russia, maria.lavlinskaya@gmail.com ✉

<sup>2</sup>Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

<sup>3</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia

**Abstract.** Despite the widespread use of enzymes in various industries, primarily in food industry, leather, pharmaceuticals, cosmetology and biomedicine, their low stability and lack of reusability limit their use. Immobilization of enzymes, i.e. limitation of the degrees of freedom of their molecules by fixing them on some carrier can help overcome these limitations. However, interactions with the support and immobilization technique can affect the catalytic ability of enzymes. In this study, we briefly summarized the information on methods for immobilizing enzymes on alginic acid and its derivatives and focused on adsorption immobilization and the use of such enzyme preparations immobilized on alginates. Alginic acid is an unbranched heterogeneous copolymer consisting of 1,4-linked  $\beta$ -D-mannuronic acid and  $\alpha$ -L-guluronic acid residues. Immobilization of enzymes on alginates often improves their stability and allows the reuse of biocatalysts. The adsorption of enzymes on alginic acid matrices and its derivatives is an effective process in terms of immobilization yield, i.e. the proportion of protein adsorbed on the carrier often exceeds 50%. Availability, biocompatibility, resistance to microbial contamination, non-toxicity and low cost make this polysaccharide a promising candidate for use as an enzyme carrier. In addition, the intrinsic biological activity of alginic acid makes it promising as a component for the creation of biocatalysts for medical or food purposes. Composites obtained from natural alginate by and their combination with other materials, both organic and inorganic, open up many new applications for immobilized enzymes. The study examines the possibilities of using enzymes immobilized on alginate or composites, widely used in the food industry. The final part of the article presents the main conclusions and also discusses the limitations of the industrial application of alginate carriers and possible ways to solve them.

**Keywords:** alginic acid, enzyme immobilization, immobilization carriers.

**Acknowledgments:** the work was carried out with financial support from the Russian Science Foundation, project No. 23-64-10020.

**For citation:** Lavlinskaya M.S., Sorokin A.V., Zuev Yu.F., Holyavka M.G., Artyukhov V.G. Adsorption immobilization of enzymes on alginates: properties and use of drugs based on them. Short review. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(5): 924-937. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11727>

### Введение

Ферменты – это природные биокатализаторы, широко используемые в биотехнологии и различных областях промышленности. Они имеют ряд преимуществ над химическими катализаторами, среди которых: высокая селективность и активность при более низких значениях pH и температуры, а также низкий уровень потребления энергии во время проведения реакции. Благодаря этому они могут широко использоваться в промышленном

масштабе, однако, как и многие биологические объекты, ферменты имеют ряд недостатков, среди которых – низкая стабильность в органических растворителях и при высоких температурах [1]. Кроме того, растворимые формы энзимов нельзя использовать многократно и затруднительно удалять из реакционной среды по завершении реакции, а изменение значений pH в ходе протекания процесса может привести к их инактивации или денатурации. С помощью иммобилизации можно оптимизировать эксплуатационные характеристики биокатализаторов,

так как в результате взаимодействия с носителем ферменты становятся более стабильными и пригодными для использования в системе органических растворителей.

Техники, применяемые для иммобилизации ферментов, можно разделить на три основные группы:

- ферменты связывают с носителем путем химических или физических взаимодействий;
- ферменты включают внутрь неорганической или органической матрицы;
- молекулы ферментов соединяют («сшивают») между собой химическими связями [2].

Процесс иммобилизации биокатализаторов на носителях повышает их стабильность, специфичность, предоставляет возможность повторного использования и упрощает процесс отделения от реакционной среды [3]. Еще одним важным преимуществом иммобилизованных ферментов является тот факт, что их можно использовать в реакциях, проводимых в неводных средах [4]. Носители различной природы используются для иммобилизации ферментов, но особое место среди них занимают полисахариды и продукты их модификации [5-14]. Альгиновая кислота и ее производные являются перспективными материалами для иммобилизации ферментов с целью получения оптимальных каталитических характеристик для практического применения.

Альгиновая кислота – линейный гетерогенный полисахарид, выделяемый из многих видов водорослей в форме натриевой соли, и состоящий из остатков β-D-маннурановой кислоты (M-звенья) и α-L-гулурановой кислоты (G-звенья), соединенных 1,4-гликозидными связями. Звенья в цепи располагаются таким образом, что образуются блоки трех типов: полиM, полиG и полиMG, распределение и соотношение которых зависит от типа продуцента [15]. Благодаря своим уникальным физико-химическим характеристикам,

альгиновая кислота и ее производные могут применяться для иммобилизации ферментов. Например, из полисахарида получают гранулы или гидрогели, в которые можно включить [16] или инкапсулировать [17] ферменты. Кроме того, альгиновая кислота и ее производные обладают собственной биологической активностью, например, повышают иммунитет и стимулируют процессы регенерации тканей [18], поэтому их использование в качестве носителей ферментов может усилить действие энзима не только как биокатализатора, но и как биологически активного вещества. Альгиновая кислота нетоксична, биосовместима, а ее доступность делает этот полисахарид перспективным материалом для получения ферментных препаратов [19]. Более того, альгиновая кислота способна образовывать устойчивые гели в мягких условиях путем сшивания двухвалентными катионами, например, ионами кальция, и эти гидрогели могут также выступать в качестве носителя для иммобилизации ферментов. Различные производные альгината имеют широкий диапазон молекулярных масс, что делает их перспективными материалами для использования в качестве носителей ферментов в иммобилизованных препаратах, полученных с использованием различных техник иммобилизации.

В настоящей работе мы ставим перед собой цель кратко обобщить информацию о способах иммобилизации ферментов на альгиновой кислоте и ее производных и сфокусироваться на адсорбционной иммобилизации и применении таких иммобилизованных на альгинатах ферментных препаратов.

### **Способы иммобилизации ферментов на альгинатах и их производных**

Для фиксации фермента на носителе используются различные техники, но на альгинатных полимерах иммобилизация ферментов чаще всего осуществляется путем включения в матрицу носителя,



инкапсуляции или адсорбции на поверхности.

Иммобилизация путем включения в матрицу носителя. В процессе включения биокатализаторы поглощаются матрицей, например гелем альгината натрия, и диспергируются в матрице, обеспечивая доступ субстратов и возможность отвода продуктов. Ферменты могут быть распределены в геле, гранулах, частицах или слоях материала и при этом не образуются ковалентные связи между белковыми молекулами и носителем, но обеспечивается более высокая стабильность ферментов [20].

Альгинат кальция предложен для иммобилизации фермента липазы. Для этого раствор, содержащий альгинат натрия и липазу, по каплям добавляли в раствор, содержащий ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Фермент включался в сшитые альгинатные гранулы, при этом отмечается, что больший размер гранул снижает эффективность иммобилизации, а полученный ферментный препарат более стабилен по сравнению с растворимой формой [21]. Аналогичным способом была иммобилизована липаза, продуцируемая представителями рода *Arthrobacter*. Иммобилизация приводила к гиперактивации фермента, и полученный эффект сохранялся в течение десяти циклов использования [22]. Иммобилизация  $\alpha$ -амилазы в гранулах альгината кальция приводила к снижению удельной активности фермента до 1764 ед/мг, что составляет 76% по сравнению с его растворимой формой. Полученный препарат был более стабилен: температурные и рН-оптимумы для свободной  $\alpha$ -амилазы составили 54°C и 5.5, а для иммобилизованного фермента – 60°C и 6.0 [23].

В таблице 1 представлены данные о ферментах, иммобилизованных путем включения в альгинатные носители.

Инкапсуляция в производные альгиновой кислоты. В этом подходе фермент иммобилизуют, заключая его в мембранный материал, называемый капсулой.

Это рентабельный и простой метод иммобилизации, особенно для ферментов, состоящих из нескольких субъединиц [30]. Имеются сообщения о широком спектре ферментов, иммобилизованных с использованием этого подхода. Инвертазу, выделяемую из *Saccharomyces cerevisiae*, иммобилизовали в альгинатных капсулах. В результате процесса оптимумы каталитической активности энзима не изменялись, однако, иммобилизованная инвертаза была более стабильной при высоких значениях рН и температуры [31]. Исследование возможности многократного использования и длительного хранения осуществлено для  $\beta$ -глюкуронидазы, иммобилизованной методом инкапсуляции в альгинатных гранулах. Иммобилизация проходила в два этапа: на первом  $\beta$ -глюкуронидаза была предварительно адсорбирована на карбонате кальция, который затем инкапсулировали в альгинат натрия. Показано, что подобный биокатализатор может использоваться в течение семи циклов с потерей активности в пределах 20% и храниться в течение 27 дней с сохранением 67% активности [32]. Альгинат кальция был предложен для совместного инкапсулирования двух ферментов – глюкозооксидазы и каталазы. В результате исследования установлено, что ингибирование энзимов наблюдается как для альгинатных гранул, так и для капсул. Однако в случае использования капсул глюкозооксидаза показала более высокую эффективность, чем при применении гранул, что было связано с влиянием структуры капсулы на конформацию фермента [33].

В таблице 2 представлены данные о ферментах, иммобилизованных путем инкапсуляции в альгинатные носители.

Иммобилизация адсорбционным методом. В этом процессе ферменты адсорбируются на поверхности носителя и за счет этого повышается их стабильность [41]. Адсорбционная иммобилизация является самым простым и доступным способом

Таблица 1. Ферменты, иммобилизованные методом их включения в альгинатные носители  
 Table 1. Enzymes immobilized by the entrapment method in alginate carriers

Фермент	Носитель	Каталитическая активность и преимущества иммобилизованной формы фермента	Потенциальное применение	Ссылка на источник
Тирозиназа	Альгинат меди	67% от активности свободного фермента, расширенный рН-диапазон работы фермента, повышенная стабильность и возможность многократного использования	Реактор для биосинтеза леводопы	[24]
Пектиназа	Альгинат кальция	Повышенная стабильность фермента с потерей только 20 % активности после трех циклов использования; повышенная стабильность при хранении	Снижение вязкости и мутности соков	[25]
Уреаза и глутаминдегидрогеназа	Альгинат натрия	Снижение степени ингибирования ионами тяжелых металлов	Обнаружение ионов меди(II) и ртути(II)	[26]
Пероксидаза соевых бобов	Альгинат кальция	Повышенная стабильность	Очистка сточных вод от азокрасителей	[27]
Лакказа	Альгинат кальция и альгинат меди	Повышенная термостабильность и расширение рН-оптимума действия	Очистка сточных вод от красителей текстильной промышленности	[28]
Аспарагиназа	Альгинат кальция	Повышенная стабильность при хранении	Биосенсор для определения концентрации L-аспарагина	[29]

получения иммобилизованных ферментов, обеспечивая при этом получение препарата, отвечающего всем требованиям для практического применения: повышенной стабильностью, расширенными рН- и температурными оптимумами, возможностью многократного использования. Для получения иммобилизованного биокатализатора адсорбционным методом достаточно нанести на твердую подложку раствор целевого фермента, высушить при неденатурирующих условиях (обычно в токе воздуха при 20-30°C) и смыть несвязанный белок. Промывные воды можно повторно использовать для получения новых партий биокатализаторов. Адсорбция фермента проис-

ходит за счет образования между молекулами белка и поверхностью носителя водородных связей, Ван-дер-Ваальсовых, гидрофобных, электростатических и прочих слабых взаимодействий. Отсутствие прочных связей между компонентами ферментного препарата приводит к смыванию энзима в процессе эксплуатации биокатализатора. Однако в настоящее время ввиду простоты аппаратного оснащения процесса получения адсорбционно-иммобилизованных ферментов, а также отсутствия необходимости использовать дополнительные компоненты, например, токсичные активаторы носителя, этот метод является самым распространенным для получения промышленно-значимых биокатализаторов.

Таблица 2. Ферменты, иммобилизованные методом их инкапсуляции в альгинатные носители  
 Table 2. Enzymes immobilized by the encapsulation method in alginate carriers

Фермент	Носитель	Каталитическая активность и преимущества иммобилизованной формы фермента	Потенциальное применение	Ссылка на источник
Глюкозооксидаза	Альгинат кальция	Снижение интенсивности вымывания фермента	Исследование процессов диффузии фермента из капсулы	[33]
		Сохранение 68% и 92% активности свободного фермента при pH 3.0 и 4.0 соответственно, возможность использования до семи раз	Получение вин с меньшим содержанием этанола	[34]
Уреаза	Хитозан, покрытый альгинатом кальция	Снижает интенсивность деградации при воздействии протеаз	Защита от гидролиза химотрипсином	[35]
$\alpha$ -Химотрипсин	Альгинат натрия	Повышение физиологической активности до 70%	Адресная доставка фермента	[36]
Глюкоамилаза	Композит альгината и бентонита	Сохранение до 52% активности и возможность использования до семи раз	Гидролиз корней маниоки для получения глюкозы	[37]
Липаза	Альгинат кальция	Возможность использования в течение четырех циклов без вымывания фермента	Переэтерификация жиров	[38]
Лакказа	Композит альгината и углерода	Повышенная емкость по отношению к ферменту, увеличение периода полужизни	Производство биодизеля	[39]
Рибонуклеаза	Альгинатные гидрогели, сшитые ионами $Ba^{2+}$ , $Mn^{2+}$ , $Ca^{2+}$ , $Zn^{2+}$ , $Cu^{2+}$ и $Ni^{2+}$	Пролонгированное действие высвобождение в течение 48 ч в количестве около 70%	Адресная доставка фермента в ЖКТ для терапии аденокарциномы двенадцатиперстной кишки	[40]

Кроме того, для нивелирования проблем вымывания белка предлагается использовать смеси альгинатных носителей с другими полимерами [4]. Например, для иммобилизации Mn-пероксидазы, продуцируемой *Ganoderma lucidum*, использовали смесь альгината натрия и поливинилового спирта. Полученный биокатализатор можно было использовать до шести

раз с сохранением активности на уровне 60% в реакциях обесцвечивания сандаловых красителей [42].

При адсорбционной иммобилизации  $\beta$ -галактозидазы – фермента, имеющего потенциальное применение в пищевой промышленности и медицине, на альгинате натрия повышается его термоста-

бильность, а также расширяется рН-оптимум действия в сторону как кислых, так и щелочных значений. Кроме того, иммобилизованная форма фермента способствует быстрому и эффективному выделению биокатализатора из реакционной среды, избегая загрязнения конечного продукта [43]. Адсорбционная иммобилизация лизоцима на композитном носителе на основе альгината кальция и оксида графена повышает стабильность фермента. Носитель получали путем внедрения наночастиц оксида графена в раствор альгината натрия, который затем «сшивали» ионами кальция. Стоит отметить, что в результате взаимодействия лизоцима с носителем возможность его многократного использования увеличилась в четыре раза по сравнению с нативным [44]. Кураяма Ф. и соавторы иммобилизовали формиатдегидрогеназу на кремниевом полимере, содержащем включения альгинат-аниона. Водные растворы альгината натрия и 3-аминопропилтриэтоксисилана смешивали, после чего образовавшийся композит помещали в раствор хлорида кальция. Затем на поверхность полученного носителя адсорбировали формиатдегидрогеназу. Выявлено, что гибридный ферментный препарат сохранял высокую активность в течение девяти циклов использования [45].

Для иммобилизации танназы на гранулах, полученных из смеси хитина и альгината натрия, предложен адсорбционный метод. Биокатализатор выделяли из *Bacillus subtilis*, после чего иммобилизовали путем инкубации в течение 4 часов в дисперсии, содержащей альгинат натрия, хлорид кальция и хитин. Выход иммобилизации по белку составил 82%, а каталитическая активность – 67% от величины, характерной для нативного фермента. После иммобилизации ферментный препарат мог храниться до трех месяцев при 4°C с сохранением 83% каталитической активности. Кроме того, после десяти циклов использования иммобили-

зованная танназа проявляла 79% активности [46]. Схожий подход предложен для адсорбционной иммобилизации пектиназы, выделенной из *Aspergillus niger*. Адсорбционную иммобилизацию фермента осуществляли на хитине, покрытом альгинатом натрия. В ходе исследования были выявлены оптимальные условия процесса: рН 4.5, время инкубации 2 ч и концентрация белка 85 мкг/см<sup>3</sup>. Выход иммобилизации по белку составил 70%, иммобилизованный фермент сохранил 60% исходной активности. Термостабильность иммобилизованной пектиназы повысилась на 10°C, а полученный препарат был в 10 раз более устойчив к термической обработке при 50°C по сравнению с нативным ферментом. При этом смещения рН-оптимума не происходило. Полученный биокатализатор сохранял 50% исходной каталитической активности после девяти циклов повторного использования. Достигнутые параметры препарата способствуют его внедрению в технологии производства соков [47]. Получены препараты пектиназы, иммобилизованной на пористых композитных гранулах из гидроксипатита и альгината кальция. При оптимальных параметрах иммобилизации, составляющих 40°C и рН 4.0, концентрации белка 5.2 ед/дм<sup>3</sup> и времени реакции 4 ч, пектиназа проявляла самую высокую ферментативную активность (8995 ед/мг) и выход иммобилизации по белку (91%). Термическая стабильность и чувствительность к рН иммобилизованной пектиназы была выше, чем у свободного фермента. Свободная и иммобилизованная пектиназы в течение 30 суток хранения сохраняли 20 и 50% их исходной активности соответственно. Таким образом, предложенные композитные гранулы могут быть перспективным носителем для эффективной иммобилизации промышленно важных ферментов [48].

Ковалентная иммобилизация. В этом методе иммобилизации молекулы фермента фиксируются на носителе за счет



образования ковалентных связей, получаемых с использованием бифункционального сшивающего агента – активатора носителя. В результате этого минимизируется вымывание белка из ферментного препарата и повышается его стабильность. Однако из-за наличия «жесткой» ковалентной связи между носителем и ферментом, часто наблюдается резкое снижение каталитической активности последнего. Кроме того, метод требует использования дополнительных компонентов – активаторов носителя, что приводит к удорожанию процесса, часто используют токсичные соединения, что накладывает ограничения на сферы применения получаемого ферментного препарата [49].

Пероксидазу хрена иммобилизовали на гранулах, полученных из смеси поливинилового спирта и альгината натрия в присутствии нитрата натрия в качестве активатора матрицы. Иммобилизованный фермент продемонстрировал улучшение термической стабильности и был пригоден для многократного использования. Результаты этого исследования показали, что пероксидазу хрена, иммобилизованную на полученных гранулах, можно использовать в качестве экономичного и экологичного катализатора в биотехнологии и промышленности, например, для очистки промышленных сточных вод, содержащих красители [50].

#### **Применение ферментов, иммобилизованных на альгинатах, в пищевой промышленности**

Различные типы ферментов используются в пищевой промышленности для увеличения срока годности продуктов питания и ускорения процессов их производства. Одними из наиболее часто применяемых энзимов являются пектиназы, выступающие в качестве агентов для осветления фруктовых соков. Например, иммобилизованная на композите из альгината и оксида графена пектиназа обладает повышенной каталитической актив-

ностью, а возможность ее повторного использования увеличивается до шести раз при потере начальной активности всего на 27%. pH- и температурный оптимумы для иммобилизованного фермента были смещены к 4.0 и на 10°C соответственно, по сравнению со свободной пектиназой. Кроме того, иммобилизация привела к повышению термоустойчивости и стабильности при хранении [51].

Зерна обжаренного кофе содержат большое количество токсичного акриламида, удаляемого из продукта путем его обработки акриламидазой. В связи с этим были изучены каталитические свойства и влияние иммобилизации на альгинатных гранулах, покрытых хитозаном, на активность акриламидазы, выделенной из *Cupriavidus oxalaticus* ICTDB921. При создании носителя полисахариды сшивались между собой лимонной кислотой, а фермент иммобилизовали ковалентно с использованием активаторов 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорида и *N*-гидроксисукцинимидом. После иммобилизации термо- и pH-стабильность ферментного препарата повышались, а биокатализатор был пригоден для многократного использования [52].

Арауджиин, являющийся протеазой растительного происхождения, иммобилизовали методом включения в альгинатную матрицу. Каталитические свойства полученного препарата изучались в водных и органических средах. Показано, что полученный биокатализатор характеризуется повышенными термоустойчивостью и стабильностью при хранении: после выдерживания в течение 45 суток при 4°C наблюдалась потеря только 5% от начальной активности. Иммобилизованный арауджиин сохраняет каталитическую активность в более широком интервале значений pH, диапазон рабочих температур повышается до 70°C, также наблюдается снижение чувствительности биокатализатора к изменениям в pH и ионной силе раствора. В неводных средах



фермент показал высокую эффективность при получении пептидов, используемых в пищевой промышленности [53].

Исследование влияния иммобилизации на  $\beta$ -глюкозидазу показало, что полученный биокатализатор эффективен в более широком диапазоне температур и pH среды. Кроме того, он способен модулировать окраску сока сахарного тростника за счет гидролиза входящих в его состав углеводов [54].

#### **Ограничения в использовании альгинатов в качестве матриц для иммобилизации ферментов**

Как уже отмечалось ранее, альгиновая кислота – растительный и нетоксичный биополимер [55], широко используемый в промышленности, выделяется, в основном, из морских водорослей класса *Rhaeorhysae*. Однако получаемый полисахарид может содержать различные токсичные загрязнители, абсорбированные из окружающей среды, и для последующего использования альгината в пищевой промышленности или медицине требуется тщательная очистка сырья [49].

Кроме того, несмотря на гелеобразующие свойства альгинатов [56, 57], значительно расширяющих способы проведения иммобилизации, линейные альгинаты, например, альгинат натрия, легко подвергаются деструкции в кислой или щелочной среде, а также при замораживании или нагревании, что может приводить к недостаточной механической прочности разрабатываемых биокатализаторов для промышленного использования [49]. Тем не менее, при сочетании методов глубокой очистки сырья, модификации альгинатов и различных техник иммобилизации ферментов, можно успешно преодолевать возникающие ограничения.

#### **Заключение и перспективы использования**

Использование альгинатов в качестве подложек для иммобилизации биоката-

лизаторов является развивающейся областью с огромными перспективами для разработки уникальных и сложных функциональных ферментов, обладающих повышенной каталитической активностью, возможностью многократного использования и стабильностью при хранении. Иммобилизованные ферменты могут обеспечить рентабельное использование дорогостоящих биокатализаторов за счет повышения их операционной стабильности и модулирования каталитических свойств. Однако, несмотря на некоторые успехи в этой области, требуется больше исследований, направленных, в первую очередь, на решение проблем низкой механической прочности альгинатных носителей и вымываемости нековалентно связанного белка с поверхности подложки.

Перспективным направлением здесь видится развитие способов и технологий получения композитов на основе альгинатов. Сочетание полисахарида с другими органическими или неорганическими, в том числе наноматериалами с требуемыми механическими характеристиками, может улучшить свойства полученных гибридных ферментных препаратов. Например, иммобилизация хлорофилла I и липазы на магнитном альгинатном носителе или каталазы методом инкапсуляции в композите наноразмерного  $Fe_3O_4$ -альгината показали, что ферментативная активность, термостабильность и устойчивость к изменениям pH повышаются после взаимодействия, а биокатализаторы пригодны для многократного использования [58, 59].

Для уменьшения интенсивности процессов вымывания ферментов и повышения выхода иммобилизации по белку также предложены различные модификации альгината, включающие использование других биополимеров или механизмов удерживания ферментов [60]. Например, являясь полианионом, альгинат может образовывать устойчивые полиэлектролитные комплексы. Было показано,



что электростатические взаимодействия между липазой и альгинатом приводят к увеличению ее стабильности и каталитической способности, повышая стерическую доступность активного центра фермента для субстрата [61].

Таким образом, альгинаты, их производные и композиты на их основе являются многообещающими материалами для получения эффективных носителей для ферментов, однако, к настоящему моменту существует еще ряд нерешенных задач, таких как низкая механическая

прочность носителей и вымываемость нековалентно связанного белка, препятствующих широкому внедрению альгинатных подложек в промышленность.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

### Список литературы/References

1. Min K., Yoo Y.J., Recent progress in nanobiocatalysis for enzyme immobilization and its application, *Biotechnol. Bioproc., E*; 2014. 19: 553-567. <https://doi.org/10.1007/s12257-014-0173-7>
2. Jesionowski T., Zdarta J., Krajewska B., Enzyme immobilization by adsorption: a review, *Adsorption*, 2014; 20: 801-821. <https://doi.org/10.1007/s10450-014-9623-y>
3. Garcia-Galan C., Berenguer-Murcia A., Fernandez-Lafuente R., Rodrigues R.C., Potential of Different Enzyme Immobilization Strategies to Improve Enzyme Performance, *Adv. Synth. Catal.*, 2011; 353: 2885-2904. <https://doi.org/10.1002/adsc.201100534>
4. Datta S., Christena L.R., Rajaram Y.R.S., Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials, 2013; 3 *Biotech.*, 3: 1-9. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0071-7>
5. Sorokin A.V., Goncharova S.S., Lavlinskaya M.S., Holyavka M.G., Faizullin D.A., Zuev Y.F., Kondratyev M.S., Artyukhov V.G., Complexation of Bromelain, Ficin, and Papain with the Graft Copolymer of Carboxymethyl Cellulose Sodium Salt and *N*-Vinylimidazole Enhances Enzyme Proteolytic Activity, *Int. J. Mol. Sci.*, 2023; 24: 11246. <https://doi.org/10.3390/ijms241411246>
6. Sorokin A.V., Goncharova S.S., Lavlinskaya M.S., Holyavka M.G., Faizullin D.A., Kondratyev M.S., Kannykin S.V., Zuev Y.F., Artyukhov V.G., Carboxymethyl Cellulose-Based Polymers as Promising Matrices for Ficin Immobilization, *Polymers*, 2023; 15: 649. <https://doi.org/10.3390/polym15030649>
7. Holyavka M.G., Goncharova S.S., Sorokin A.V., Lavlinskaya M.S., Redko Y.A., Faizullin D.A., Baidamshina D.R., Zuev Y.F., Kondratyev M.S., Kayumov A.R., Artyukhov V.G., Novel Biocatalysts Based on Bromelain Immobilized on Functionalized Chitosans and Research on Their Structural Features, *Polymers*, 2022; 14: 5110. <https://doi.org/10.3390/polym14235110>
8. Olshannikova S.S., Malykhina N.V., Lavlinskaya M.S., Sorokin A.V., Yudin N.E., Vyshkvorkina Y.M., Lukin A.N., Holyavka M.G., Artyukhov V.G. Novel Immobilized Biocatalysts Based on Cysteine Proteases Bound to 2-(4-Acetamido-2-sulfanilamide) Chitosan and Research on Their Structural Features, *Polymers*, 2022; 14: 3223. <https://doi.org/10.3390/polym14153223>
9. Sorokin A.V., Olshannikova S.S., Lavlinskaya M.S., Holyavka M.G., Faizullin D.A., Zuev Y.F., Artukhov V.G., Chitosan Graft Copolymers with *N*-Vinylimidazole as Promising Matrices for Immobilization of Bromelain, Ficin, and Papain, *Polymers*, 2022; 14: 2279. <https://doi.org/10.3390/polym14112279>
10. Malykhina N.V., Olshannikova S.S., Holyavka M.G., Sorokin A.V., Lavlinskaya M.S., Artukhov V.G., Faizullin D.A., Zuev Y.F., Preparation of Ficin Complexes with Carboxymethylchitosan and *N*-(2-Hydroxy)Propyl-3-Trimethylammoniumchitosan and Studies of Their Structural Features, *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2022; 48(Suppl 1): S50-S60. <https://doi.org/10.1134/S1068162022060176>
11. Red'ko Y.A., Ol'shannikova S.S., Holyavka M.G., Lavlinskaya M.S., Sorokin A.V., Artukhov V.G., Development of a Method for Obtaining Bromelain Associates with Chitosan Micro- and Nanoparticles, *Pharm. Chem. J.*,



- 2022; 56: 984-988.  
<https://doi.org/10.1007/s11094-022-02737-5>
12. Sorokin A.V., Olshannikova S.S., Malykhina N.V., Sakibaev F.A., Holyavka M.G., Lavlinskaya M.S., Artukhov V.G., Acyl-Modified Water-Soluble Chitosan Derivatives as Carriers for Adsorption Immobilization of Pepsin, *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2022; 48: 310-320. <https://doi.org/10.1134/S1068162022020212>
13. Ol'shannikova, S.S., Red'ko, Y.A., Lavlinskaya, M.S., Sorokin A.V., Holyavka M.G., Artukhov V.G., Preparation of Pepsin Complexes with Chitosan Microparticles and Evaluation of Their Stability Using the Enzyme Activity Level, *Pharm. Chem. J.*, 2022; 55: 1240-1244. <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02564-8>
14. Makshakova O.N., Bogdanova L.R., Makarova A.O., Kusova, A.M., Ermakova, E.A., Kazantseva M.A., Zuev, Y.F.,  $\kappa$ -Carrageenan Hydrogel as a Matrix for Therapeutic Enzyme Immobilization, *Polymers*, 2022; 14: 4071. <https://doi.org/10.3390/polym14194071>
15. Bilal M., Iqbal H.M.N., Naturally-derived biopolymers: Potential platforms for enzyme immobilization, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019; 130: 462-482. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.152>
16. Anwar A., Qader S.A.U., Raiz A., Iqbal S., Azhar A., Calcium alginate: a support material for immobilization of proteases from newly isolated strain of *Bacillus subtilis* KIBGE-HAS, *World Appl. Sci. J.*, 2009; 7(10): 1281-1286.
17. Zhao F., Li H., Wang X., Wu L., Hou T., Guan J., Jiang Y., Xu H., Mu X., CRGO/alginate microbeads: an enzyme immobilization system and its potential application for a continuous enzymatic reaction, *J. Mater. Chem. B*, 2015; 3: 9315-9322. <https://doi.org/10.1039/C5TB01508A>
18. Raus R.A., Wan Nawawi W.M.F., Nasaruddin R.R., Alginate and alginate composites for biomedical applications, *Asian J. Pharm. Sci.*, 2021; 16(3): 280-306. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.10.001>
19. Broderick E., Lyons H., Pembroke T., Byrne H., Murray B., Hall M., The characterisation of a novel, covalently modified, amphiphilic alginate derivative, which retains gelling and non-toxic properties, *J. Colloid Interface Sci.*, 2006; 298(1): 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.12.026>
20. Imam H.T., Marr P.C., Marr A.C., Enzyme entrapment, biocatalyst immobilization without covalent attachment, *Green Chem.*, 2021; 23: 4980-5005. <https://doi.org/10.1039/D1GC01852C>
21. Won K., Kim S., Kim K.-J., Park H.W., Moon S.-J., Optimization of lipase entrapment in Ca-alginate gel beads, *Process Biochem.*, 2005; 40(6): 2149-2154. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.08.014>
22. Bhushan B., Pal A., Jain V., Improved Enzyme Catalytic Characteristics upon Glutaraldehyde Cross-Linking of Alginate Entrapped Xylanase Isolated from *Aspergillus flavus* MTCC 9390, *Enzyme Res.*, 2015; 2015: 210784. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/210784>
23. Siva Sai Kumar R., Vishwanath K.S., Singh S.A., Rao A.G.A, Entrapment of  $\alpha$ -amylase in alginate beads: Single step protocol for purification and thermal stabilization, *Process Biochem.*, 2006; 41(11): 2282-2288. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.05.028>
24. Munjal N., Sawhney S.K., Stability and properties of mushroom tyrosinase entrapped in alginate, polyacrylamide and gelatin gels, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 2002; 30(5): 613-619. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00019-4](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00019-4)
25. de Oliveira R.L., Dias J.L., da Silva O.S., Porto T.S., Immobilization of pectinase from *Aspergillus aculeatus* in alginate beads and clarification of apple and umbu juices in a packed bed reactor, *Food Bioprod. Process.*, 2018; 109: 9-18, <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.02.005>
26. Rodriguez B.B., Bolbot J.A., Tothill, I.E., Urease-glutamic dehydrogenase biosensor for screening heavy metals in water and soil samples, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004; 380: 284-292. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2704-0>
27. Tummino M.L., Tolardo V., Malandri M., Sadraei R., Magnacca G., Laurenti E., A Way to Close the Loop: Physicochemical and Adsorbing Properties of Soybean Hulls Recovered After Soybean Peroxidase Extraction, *Front. Chem.*, 2020; 8: 763. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00763>
28. Bagewadi Z.K., Mulla S.I., Ninnekar H.Z., Purification and immobilization of laccase from *Trichoderma harzianum* strain HZN10 and its application in dye decolorization, *J. Gen. Eng. Biotechnol.*, 2017; 15(1): 139-150. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.01.007>
29. Kumar L., Kumar P., Kar M., Influence of Mn substitution on crystal structure and magnetocrystalline anisotropy of nanocrystalline  $\text{Co}_{1-x}\text{Mn}_x\text{Fe}_{2-2x}\text{Mn}_{2x}\text{O}_4$ , *Appl. Nanosci.*, 2013;



- 3: 75-82. <https://doi.org/10.1007/s13204-012-0071-2>
30. Minter S. Enzyme Stabilization and Immobilization. *Methods in Molecular Biology*, vol 1504. Humana Press, New York, NY., 2017, 324 p.
31. Tanriseven A., Doğan S., Immobilization of invertase within calcium alginate gel capsules, *Process Biochem.*, 2011; 36(11): 1081-1083. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00146-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00146-7)
32. Li J., Jiang Z., Wu H., Long L., Jiang Y., Zhang L., Improving the recycling and storage stability of enzyme by encapsulation in mesoporous CaCO<sub>3</sub>-alginate composite gel, *Compos. Sci. Technol.*, 2009; 69(3-4): 539-544. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2008.11.017>
33. Blandino A., Macías M., Cantero D., Glucose oxidase release from calcium alginate gel capsules, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 2000; 27(3-5): 19-324. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00204-0](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00204-0)
34. Ruiz E., Busto M.D., Ramos-Gómez S., Palacios D., Pilar-Izquierdo M.C., Ortega N., Encapsulation of glucose oxidase in alginate hollow beads to reduce the fermentable sugars in simulated musts, *Food Biosci.*, 2018 24: 67-72. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.06.004>
35. DeGroot A.R., Neufeld R.J., Encapsulation of urease in alginate beads and protection from  $\alpha$ -chymotrypsin with chitosan membranes, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 2001; 29(6-7): 321-327. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00393-3](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00393-3)
36. Tiourina O.P., Sukhorukov G.B., Multi-layer alginate/protamine microsized capsules: encapsulation of  $\alpha$ -chymotrypsin and controlled release study, *Int. J. Pharm.*, 2002; 242 (1-2): 155-161. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00140-0](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00140-0)
37. Rahim S.N.A., Sulaiman A., Hamzah F., Hamid K.H.K., Rodhi M.N.M., Musa M., Edama N.A., Enzymes Encapsulation within Calcium Alginate-clay Beads: Characterization and Application for Cassava Slurry Saccharification, *Procedia Eng.*, 2013; 68: 411-417. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.12.200>
38. Yadav G.D., Jadhav S.R., Synthesis of reusable lipases by immobilization on hexagonal mesoporous silica and encapsulation in calcium alginate: Transesterification in non-aqueous medium, *Microporous Mesoporous Mater.*, 2005; 86(1-3): 215-222. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2005.07.018>
39. Khani Z., Jolivalt C., Cretin M., Tingry S., Innocent C., Alginate/carbon composite beads for laccase and glucose oxidase encapsulation: application in biofuel cell technology. *Biotechnol. Lett.*, 2006; 28: 1779-1786. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9160-1>
40. Bogdanova L.R., Zelenikhin P.V., Makarova A.O., Zueva O.S., Salnikov V.V., Zuev Y.F., Ilinskaya O.N., Alginate-Based Hydrogel as Delivery System for Therapeutic Bacterial RNase, *Polymers*, 2022; 14: 2461. <https://doi.org/10.3390/polym14122461>
41. Guisan J., Bolivar J., López-Gallego F., Rocha-Martín J. Immobilization of Enzymes and Cells. *Methods in Molecular Biology*, vol 2100. Humana, New York, NY., 2020, 457 p.
42. Bilal M., Asgher M. Sandal reactive dyes decolorization and cytotoxicity reduction using manganese peroxidase immobilized onto polyvinyl alcohol-alginate beads. *Chem. Central J.*, 2015; 9: 47. <https://doi.org/10.1186/s13065-015-0125-0>
43. Souza C.J.F., Garcia-Rojas E.E., Favaro-Trindade C.S., Lactase ( $\beta$ -galactosidase) immobilization by complex formation: Impact of biopolymers on enzyme activity, *Food Hydrocolloids*, 2018; 83: 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.044>
44. Li J., Ma J., Chen S., Huang Y., He J., Adsorption of lysozyme by alginate/graphene oxide composite beads with enhanced stability and mechanical property, *Material. Sci. Eng. C*, 2018; 89: 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.03.023>
45. Kurayama F., Bahadur N.M., Furusawa T., Sato M., Suzuki N., Facile preparation of aminosilane-alginate hybrid beads for enzyme immobilization: Kinetics and equilibrium studies, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020; 150: 1203-1212. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.130>
46. Jana A., Halder S.K., Ghosh K., Paul T., Vagvolgyi C., Mondal K.C., Mohapatra P.K.D., Tannase Immobilization by Chitin-Alginate Based Adsorption-Entrapment Technique and Its Exploitation in Fruit Juice Clarification, *Food. Bioprocess. Technol.*, 2015; 8: 2319-2329. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1586-9>



47. Ramirez H.L., Briones A.I., Úbeda J., Arevalo M., Immobilization of pectinase by adsorption on an alginate-coated chitin support, *Biotechnol. Appl.* 2013; 30(2): 101-104.
48. Qi D., Gao M., Li X., Lin J., Immobilization of Pectinase onto Porous Hydroxyapatite/Calcium Alginate Composite Beads for Improved Performance of Recycle, *ACS Omega*, 2020; 5(32): 20062–20069. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01625>
49. Jana S., Alginate Biomaterial. Springer, Singapore, 2023, 425 p.
50. Bilal M., Rasheed T., Iqbal H.M.N., Hu H., Wang W., Zhang X., Novel characteristics of horseradish peroxidase immobilized onto the polyvinyl alcohol-alginate beads and its methyl orange degradation potential, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2017; 105: 328–335. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.042>
51. Dai X.-Y., Kong L.-M., Wang X.-L., Zhu Q., Chen K., Zhou T., Preparation, characterization and catalytic behavior of pectinase covalently immobilized onto sodium alginate/graphene oxide composite beads, *Food Chem.*, 2018; 253: 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.157>
52. Bedade D.K., Sutar Y.B., Singhal R.S., Chitosan coated calcium alginate beads for covalent immobilization of acrylamidase: Process parameters and removal of acrylamide from coffee, *Food Chem.*, 2019; 275, 2019: 95-104. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.090>
53. Quiroga E., Illanes C.O., Ochoa N.A., Barberis S., Performance improvement of araujiain, a cystein phytoprotease, by immobilization within calcium alginate beads, *Process Biochem.*, 2011; 6(4): 1029-1034. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.01.012>
54. Keerti, Gupta A., Kumar V., Dubey A., Verma A.K., Kinetic Characterization and Effect of Immobilized Thermostable  $\beta$ -Glucosidase in Alginate Gel Beads on Sugarcane Juice, *Int. J. Schol. Not.*, 2014; 2014: 178498. <https://doi.org/10.1155/2014/178498>
55. Mushollaeni W., Supartini N., Rusdiana E., Toxicity Test of Alginate from Sargassum and Padina on the Liver of Mice, *Food Public Health*, 2014; 4(4): 204-208. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20140404.05>
56. Makarova A.O., Derkach S.R., Khair T., Kazantseva M.A., Zuev Y.F., Zueva, O.S., Ion-Induced Polysaccharide Gelation: Peculiarities of Alginate Egg-Box Association with Different Divalent Cations, *Polymers*, 2023; 15: 1243. <https://doi.org/10.3390/polym15051243>
57. Zueva O.S., Khair T., Derkach S.R., Kazantseva M.A., Zuev Y.F., Strontium-Induced Gelation of Sodium Alginate in the Presence of Carbon Nanotubes: Elemental Analysis and Gel Structure. *J. Compos. Sci.*, 2023; 7: 286. <https://doi.org/10.3390/jcs7070286>
58. Yang C.-H., Yen C.-C., Jheng J.-J., Wang C.-Y., Chen S.-S., Huang P.-Y., Huang K.-S. Shaw J.-F., Immobilization of *Brassica oleracea* Chlorophyllase 1 (BoCLH1) and *Candida rugosa* Lipase (CRL) in Magnetic Alginate Beads: An Enzymatic Evaluation in the Corresponding Proteins. *Molecules*, 2014; 19: 11800-11815. <https://doi.org/10.3390/molecules190811800>
59. Kumar A., Bilal M., Ferreira L.F.R., Kumaru M., Microbial Biomolecules: Emerging Approach in Agriculture, Pharmaceuticals, and Environmental Management, Academic Press, Chennai, India, 2023, 540 p.
60. Chaudhari S.A., Kar J.R., Singhal R.S., Immobilization of proteins in alginate: functional properties and applications, *Curr. Org. Chem.*, 2015; 19(17): 1732–1754. <https://doi.org/10.2174/1385272819666150429232110>
61. Tielen P., Kuhn H., Rosenu F., Jaeger K.-E., H.-C. Flemming, Wingender J., Interaction between extracellular lipase LipA and the polysaccharide alginate of *Pseudomonas aeruginosa*, *BMC Microbiol.*, 2013; 13(1): 1-12. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-159>

### Информация об авторах / Information about the authors

**М.С. Лавлинская** – к.х.н., старший научный сотрудник кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж; старший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный потенциал приморской территории», Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

**M.S. Lavlinskaya** – PhD (Chem), Senior Researcher, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh; Senior Researcher of Bioresource Potential of the Seaside Territory Laboratory, Sevastopol State University, Sevastopol, Russia, e-mail: [maria.lavlinskaya@gmail.com](mailto:maria.lavlinskaya@gmail.com)



**А.В. Сорокин** – младший научный сотрудник кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж; младший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный потенциал приморской территории», Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

**Ю.Ф. Зуев** – д.х.н., проф., руководитель лаборатории биофизической химии наносистем, Казанский институт биохимии и биофизики, Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

**М.Г. Холявка** – д.б.н., доц., профессор кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж; профессор кафедры «Физика» Севастопольского государственного университета, Севастополь, Россия

**В.Г. Артюхов** – д.б.н., проф., заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**A.V. Sorokin** – Junior Researcher, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh; Junior Researcher of Bioresource Potential of the Seaside Territory Laboratory, Sevastopol State University, Sevastopol, Russia, e-mail: [andrew.v.sorokin@gmail.com](mailto:andrew.v.sorokin@gmail.com)

**Yu. F. Zuev** – Doctor of Science (Chem), professor, Head of The Laboratory of Biophysical Chemistry of Nanosystems, Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia, e-mail: [yufzuev@mail.ru](mailto:yufzuev@mail.ru)

**M.G. Holyavka** – Doctor of Science (Biol), professor, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University, Voronezh, professor of Physics Department, Sevastopol State University, Sevastopol, Russia, e-mail: [holyavka@rambler.ru](mailto:holyavka@rambler.ru)

**V.G. Artyukhov** – Doctor of Science (Biol), professor, Head of the Biophysics and Biotechnology Department, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: [artyukhov@bio.vsu.ru](mailto:artyukhov@bio.vsu.ru)

*Статья поступила в редакцию 29.07.2023; одобрена после рецензирования 04.09.2023; принята к публикации 06.09.2023.*

*The article was submitted 29.07.2023; approved after reviewing 04.09.2023; accepted for publication 06.09.2023.*