

of cation-exchange properties of an organozeolite// Zeolites and Mesoporous Materials at dawn of the 21th century. Preceeding of the 13th International Zeolite Conference, Montpellier, France 8-13 July 2001, Elsevier 2001, p.361, CD22-p-12.

6. Богданова В.И., Белицкий И.А., Предина Л.М., Галай Г.И., Дробот И.Б., Определение ионообменной емкости цеолитсодержащей породы по поглощенному аммонии. Отраслевая методика. Инструкция N24, Новосибирск, 1993, 18 с.

7. Шарло Г. Методы аналитической химии М., "Химия" 1965, с.547

8. Справочник технического комитета по стандартизации. Государственный контроль качества воды. М., ИПК Издательство стандартов. 2003 г., с.290.

Кац Эсфирь Моисеевна - научный сотрудник, лаборатория сорбционных методов ГЕОХИ РАН, Москва

Kats Esfir M. - researcher, Laboratory of sorption methods GEOkhi RAS, Moscow, e-mail: Nikashina@geokhi.ru

УДК 541.183.123.8

Координационно-ионная иммобилизация глюкоамилазы на ионообменниках

Шкутина И.В., Стоянова О.Ф., Селеменев В.Ф., Загородний А.А.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 24.05.2010 г.

Аннотация

Изучен процесс координационно-ионной иммобилизации глюкоамилазы на носителях АНКБ-2 и АНКБ-50 с использованием в качестве комплексообразователей ионов переходных металлов Cu(II), Fe(III), Co(II), Ni(II). Определены каталитическая активность и цикличность работы полученных гетерогенных биокатализаторов.

Ключевые слова: глюкоамилаза, координационно-ионная иммобилизация, аминокарбоксильные ионообменники.

The process of ion- co-ordinating immobilization of glucoamylase on ANKB-2 and on ANKB-50 carriers using ions of transitional metals as complex generators was studied. The catalytic activity and work recurrence of the obtained heterogeneous bio-catalysts were defined.

Keywords: glucoamylase, the ion – co-ordinating immobilization, aminocarboxile ion-exchangers

Введение

С каждым годом ферментные препараты находят все большее применение в медицине, фармацевтической, пищевой, легкой и других отраслях промышленности. Глюкоамилаза (α -1,4-глюкан-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.3.) катализирует последовательное отщепление концевых остатков α -D-глюкозы с нередуцирующих концов полисахаридов, обладает экзогенным механизмом воздействия на субстрат. Отличительной особенностью глюкоамилазы является способность в десятки раз быстрее гидролизовать высокополимеризованный субстрат, чем олиго- и дисахариды [1].

Иммобилизованные ферменты обладают рядом преимуществ по сравнению с нативными ферментами, среди которых наиболее важные – многократность использования и устойчивость к денатурирующим агентам. Ранее нами была осуществлена адсорбционная иммобилизация глюкоамилазы на ионогенных и неионогенных носителях различной природы [2-4]. Целью настоящей работы является проведение координационно-ионной иммобилизации глюкоамилазы на гранульных ионообменниках АНКБ-2 и АНКБ-50 с использованием в качестве металлов-комплексообразователей ионов переходных металлов.

Эксперимент

В качестве объекта исследования служил гидролитический фермент глюкоамилаза из *Aspergillus awamori*. Носителями для иммобилизации глюкоамилазы выступали аминокарбоксильные ионообменники АНКБ-2 и АНКБ-50. Подготовку ионообменников к иммобилизации осуществляли путем выделения требуемой по размерам гранул фракции, кондиционированием и переводом в нужную ионную форму [5].

Для осуществления координационно-ионной иммобилизации была проведена модификация полиамфолитов АНКБ-2 и АНКБ-50 металлами Cu^{2+} , Fe^{+3} , Co^{2+} , Ni^{2+} . Сорбенты насыщали в статических условиях. Время достижения равновесия составляло 48 часов. Концентрацию ионов металла в растворе определяли фотометрически [6]. Далее носители отфильтровывали, промывали дистиллированной водой и этиловым спиртом, высушивали на фильтре. Иммобилизацию глюкоамилазы проводили инкубацией металлсодержащих носителей с раствором фермента в ацетатном буфере (рН 4,7) при температуре 20°C в течение 6 часов. Общее количество белка в нативных ферментных препаратах определяли методом Лоури, в иммобилизованных ферментах – модифицированным методом Лоури. Каталитическую активность фермента измеряли глюкозооксидазным методом. За единицу активности глюкоамилазы принимали такое количество фермента, которое катализирует гидролиз крахмала при 25°C и рН 4,7 в течение 1 мин с образованием 1 мкмоль глюкозы.

Обсуждение результатов

В настоящей работе была проведена иммобилизация глюкоамилазы путем образования координационных соединений переходных металлов с функциональными группами носителя и фермента. Наряду с ионами меди, имеющими координационное число 4 с органическими лигандами, для модификации носителей были применены шестикоординационные ионы Co(II) , Ni(II) , Fe(III) , также образующие прочные комплексы с группами α -пиколиновой и иминодиуксусной кислот полиамфолитов и имеющие близкие к Cu(II) ионные радиусы. Основные характеристики полученных образцов иммобилизованной глюкоамилазы приведены в таблице. Переход от четырехкоординационной Cu(II) к шестикоординационным ионам позволяет повысить количество иммобилизованного белка на используемых в работе амфолитах. При этом для всех металлсодержащих носителей АНКБ-2 количество связанной глюкоамилазы выше, чем для АНКБ-50.

Таблица. Свойства иммобилизованной глюкоамилазы

Носитель	Ион металла	Содержание ионов металла, моль/г носителя	Содержание фермента, мг/г носителя	Сохранение активности, %	Число циклов
АНКБ- 2	Fe(III)	1.69	9.2	85	9
	Cu(II)	1.40	7.5	83	13
	Co(II)	1.83	8.6	73	10
	Ni(II)	1.71	8.3	55	7
АНКБ-50	Fe(III)	1.71	8.8	75	8
	Cu(II)	1.43	5.3	72	10
	Co(II)	1.87	7.2	56	8
	Ni(II)	1.74	6.1	35	7

Определение активности полученных образцов показало, что иммобилизованная глюкоамилаза проявляет значительную активность в присутствии всех ионов-комплексобразователей. Эффективность использования Cu(II) сопоставима с эффективностью применения шестикоординационных ионов. Вероятно, аксиальные позиции меди обеспечивают более выгодное расположение хелатирующих группировок белковой молекулы. Минимальную активность имеют никельсодержащие образцы. В работе [6] показано, что ионы переходных металлов не оказывают влияние на активность нативной глюкоамилазы, и фермент не является металлзависимым. Поэтому активность иммобилизованного фермента, вероятно, будет определяться структурой самого комплекса фермент-носитель.

Использование координационно-ионной иммобилизации приводит к увеличению количества циклов работы глюкоамилазы по сравнению с адсорбционной иммобилизацией. Так для комплекса АНКБ-2 (Cu)-глюкоамилаза количество циклов равно 13, а для АНКБ-50 (Cu)-глюкоамилаза -10, что является довольно хорошим результатом при использовании гетерогенных биокатализаторов в процессах расщепления крахмала.

Проведенные исследования показали, что для координационно-ионной иммобилизации фермента может быть использован ряд ионов переходных металлов. Свойства иммобилизованного фермента зависят от дентатности лиганда и комплексобразующего иона металла.

Список литературы

1. Жеребцов Н.А. Амилолитические ферменты в пищевой промышленности. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 160 с.
2. Шкутина И.В., Стоянова О.Ф., Селеменев В.Ф., Григорьева Г.А. Адсорбционная иммобилизация глюкоамилазы на амфотерных полиэлектrolитах // Журнал физической химии. – 2001. – Т.75, №11. – С.2008 – 2010.
3. Шкутина И.В., Стоянова О.Ф., Селеменев В.Ф. Адсорбционная иммобилизация глюкоамилазы на неионогенном сорбенте Стиросорб // Журнал прикладной химии. – 2001. – Т.74, №5. – С.869 – 871.
4. Шкутина И.В. Особенности адсорбционной иммобилизации глюкоамилазы на волокнистых полиэлектrolитах / И.В. Шкутина, О.Ф.Стоянова,

В.Ф.Селеменев // Журнал прикладной химии. – 2005. – Т.78, №6. – С. 1003 – 1005.

5. Селеменев В.Ф., Славинская Г.В., Хохлов В.Ю. и др. Практикум по ионному обмену. – Воронеж: Изд-во Воронеж.гос. у-та, 2004. – 160 с.

6.Марченко З. Фотометрическое определение элементов. / З. Марченко; под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Мир. 1971. –504 с.

7.M. Krzechovska, H. Urbanek Isolation and some properties of glucoamylase from *Cophalosporus charticola* Lindau. *Appl. Microbiol.* – 1975. – V. 30, №2. – p. 163 – 166.

Шкутина Ирина Викторовна – доцент, к.б.н.; кафедра аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж

Стоянова Ольга Федоровна – доцент, к.х.н.; кафедра аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж

Селеменев Владимир Федорович – профессор, д.х.н., зав. кафедрой аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж

Shkutina Irina V. – Assistant Professor, Candidate of Biological Science, Department of analytic chemistry, Voronezh State University, Voronezh

Stoyanova Olga F. - Assistant Professor, Candidate of Chemical Science, Department of analytic chemistry, Voronezh State University, Voronezh

Selemenov Vladimir F. - Professor, Doctor of Chemical Sciences, Head of the Department of Analytic Chemistry, Voronezh State University, Voronezh

УДК 628.543

Кинетика сорбции ионного ПАВ анионитами на эпихлоргидриновой матрице

Куренкова О.В., Славинская Г.В.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный архитектурно-строительный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 1.07.2010 г.

Аннотация

Выявлена зависимость константы скорости адсорбции анионного ПАВ низкоосновными анионитами от внешних условий эксперимента. Ее увеличению способствуют повышение температуры, увеличение степени дисперсности, перевод в солевую форму.

Ключевые слова: ПАВ, сорбция, анионит, константа скорости

The dependence of the rate constants of adsorption of anionic surfactants nizkoosnovnymi anion exchangers on the external conditions of the experiment. It contributed to an increase in temperature rise, the increase in the degree of dispersion, conversion to salt form.

Keywords: nekal, sorption, anionits, speed constants of sorption process

Введение

Выявление кинетических закономерностей в сорбционных технологиях является важнейшим этапом исследований. Эффективность применения ионитов
