

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ОКСИДОРЕДУКТАЗ И ГИДРОЛАЗ В ПРОИЗВОДСТВЕ БАВ

Б.Б. Тихонов, Д.Р. Лисичкин, В.Г. Матвеева, А.М. Сульман, М.Г. Сульман

ФГБОУ ВПО «Тверской государственной технической университет», Тверь, Россия

В настоящее время остро стоит вопрос дефицита безопасных природных и синтетических биологически активных веществ, которые используются в качестве компонентов лекарственных препаратов, биологически активных добавок к пище и пищевых продуктов при одновременном непрерывном увеличении спроса на них вследствие санкций и закрытия большинства рынков [1]. В настоящее время многие из промышленно важных биологически активных веществ, используемых в фармацевтической, пищевой и парфюмерно-косметической промышленности, выделяют из тканей растений, принадлежащих к редким видам [2]. В связи с этим в настоящее время идет целенаправленный поиск новых способов получения экологически и физиологически безопасных биологически активных веществ [3]. Большинство природных компонентов, извлекаемых из растительных источников, обладают невысокой степенью чистоты, содержат природные комплексы с белками, жирами и углеводами, из которых целевые компоненты очень трудоемко и экономически невыгодно извлекать [4]. Кроме того, часть этих компонентов недостаточно устойчива к меняющимся условиям внешней среды, их свойства динамически изменяются, в связи с чем они не могут быть использованы в качестве сырья для фармацевтики и пищевой промышленности, где свойства компонентов и их безопасность имеют определяющее значение [5].

Решение проблемы сырьевого дефицита пищевой и фармацевтической промышленности невозможно без разработки новых экологически безопасных и безотходных технологий получения компонентов. Перспективным направлением в этой связи является использование биокаталитических технологий. Ферменты, благодаря своим свойствам, позволяют в мягких условиях получить целевые продукты высокой степени чистоты с практически полной конверсией (более 95%) исходных субстратов в продукты реакции [6]. Проблема отделения фермента от реакционной смеси и многократного его использования решается с помощью иммобилизации ферментов на твердых носителях, модифицированных функциональными группами (аминогруппами, карбоксильными группами). После цикла применения иммобилизованного биокатализатора он легко и полностью отделяется с помощью фильтрации или воздействия магнитного поля (при использовании магнитоотделяемых носителей) и может быть использован в следующем цикле практически без потери активности.

Среди ферментов, применяющихся в различных сферах науки и производства для получения биологически активных веществ, особое место занимают оксидоредуктазы (К.Ф. – 1) (прежде всего – пероксидаза (К.Ф. - 1.11.1.7), тирозиназа (К.Ф. - 1.14.18.1), глюкозооксидаза (К.Ф. 1.1.3.4) и гидролазы (К.Ф. – 3) (среди них – липаза (К.Ф. - 3.1.1.3) и целлюлаза (К.Ф. – 3.2.1.4), отличительной особенностью которых является высокая активность, специфичность и стабильность в катализируемых реакциях, а также относительная легкость извлечения из природных источников [7, 8]. Сферы применения иммобилизованных оксидоредуктаз и гидролаз расширяются с каждым годом, однако, следует отметить, что ни один из существующих на сегодняшний день методов иммобилизации ферментов не является универсальным для всех ферментов, что только увеличивает интерес исследователей к данной тематике.

Пероксидаза чаще всего используется для окисления фенольных и других ароматических с получением полезных целевых продуктов. При этом наиболее распространены носителями для иммобилизации пероксидазы, по литературным данным, являются магнитные частицы или модифицированные различными способами биополимеры. Использование пероксидаз в синтезе конкретных органических соединений – также достаточно интенсивно развивающаяся область [8-10].

Тирозиназа также очень широко используется в процессах получения различных органических соединений [11]. Кроме того, перспективным направлением использования иммобилизованной тирозиназы (в связке с лакказой) является связывание полисахаридов и белков за счет взаимодействия образующихся при окислении тирозина хинонов с глютенем в хлебопечении [12].

Глюкозооксидаза в последние годы широко применяется как в свободном, так и в иммобилизованном виде в химической, фармацевтической, пищевой промышленности, клинической и аналитической химии и биотехнологии. В органическом синтезе глюкозооксидаза используется для коммерческого получения глюконовой кислоты, образующейся при гидролизе δ -глюконо-1,5-лактона, конечного продукта окисления глюкозы глюкозооксидазой [13].

Липаза является катализатором гидролиза сложных эфиров. Активность липазы хорошо изучена при преобразовании триглицеридов в биотопливо, кроме того, ее используют для энантиоселективного гидролиза прохиральных диэфиров [14].

Целлюлаза используется в пищевой промышленности для гидролиза целлюлозы клеточных оболочек кофейных зёрен. Также препараты целлюлазы находят применение для ферментации биомассы при производстве биотоплива [15].

Исходя из изложенного выше, выявлены следующие тенденции использования иммобилизованных оксидоредуктаз и гидролаз в производстве БАВ:

1) При использовании иммобилизованных ферментов в производстве чаще всего проводится модификация ферментов с целью их ковалентной сшивки с твердыми, химически и механически устойчивыми носителями, что повышает операционную стабильность биокатализаторов и их устойчивость к ингибирующим воздействиям;

2) В последнее время в качестве носителей для иммобилизации ферментов все шире применяются биodeградируемые и биосовместимые материалы (биополимеры, глины, водоросли и т.д.), а в качестве модификаторов – биобезопасные реагенты (карбодимиды, N-гидроксисукцинимид, глутатион, цистеин и т.д.).

3) Совмещение в иммобилизованных биокатализаторах нескольких функций (чаще всего – каталитической и адсорбционной), что позволяет существенно повысить эффективность целевых процессов;

4) Синтез биокатализаторов по методологии «рационального дизайна», то есть не универсальных систем, а систем, адаптированных под конкретные условия применения, что существенно повышает их эффективность в конкретной сфере.

5) Существенное снижение себестоимости биокатализаторов за счет использования природных источников ферментов, минимизации количества стадий синтеза и количества использованных реагентов.

Таким образом, выявлено, что иммобилизованные оксидоредуктазы и гидролазы являются перспективными объектами исследований в сфере получения биологически активных веществ и полупродуктов их синтеза.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 27-79-10042).

Литература

1. Campos K.R., Coleman P.J., Alvarez J.C. et al. The importance of synthetic chemistry in the pharmaceutical industry // *Science*. 2019. Vol. 363. № 6424. eaao0808. doi: 10.1126/science.aao0808
2. Буркова Е.А., Канарский А.В., Канарская З.А. Перспектива применения фитобиотехнологии для получения биологически активных веществ // *Вестник Казанского технологического университета*. 2014. Т. 17. № 14. С. 352–356.
3. Mulabagal V. Plant cell cultures - an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites // *International Journal of Applied Science and Engineering*. 2004. Vol. 2. № 1. P. 29–48.
4. Blakemore D.C., Castro L., Churcher I. et al. Organic synthesis provides opportunities to transform drug discovery // *Nature Chemistry*. 2018. Vol. 10. P. 383–394. doi: 10.1038/s41557-018-0021-z
5. Миронова О.П., Тамова М.Ю., Кудинова С.П. и др. Влияние некоторых факторов на стабильность ликопина, извлеченного из растительного сырья // *Известия вузов. Пищевая технология*. 2004. № 4. С. 26–27.
6. Тихонов Б.Б., Сульман Э.М., Стадольникова П.Ю. и др. Иммобилизованные ферменты класса оксидоредуктаз в технологических процессах: обзор // *Катализ в промышленности*. 2019. Т. 19. № 1. С. 59–72.
7. Sanchez S., Demain A.L. Enzymes and bioconversions of industrial, pharmaceutical, and biotechnological significance // *Organic Process Research & Development*. 2011. Vol. 15. № 1. P. 224–230. doi: 10.1021/op100302x
8. Martínez A.T., Ruiz-Dueñas F.J., Camarero S. et al. Oxidoreductases on their way to industrial biotransformations // *Biotechnology Advances*. 2017. Vol. 35. № 6. P. 815–831. doi: 10.1016/j.biotechadv.2017.06.003
9. Hamid M., Khalil-ur-Rehman Potential applications of peroxidases // *Food Chemistry*. 2009. Vol. 115. № 4. P. 1177–1186. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.035
10. Guzik U., Hupert-Kocurek K., Wojcieszynska D. Immobilization as a strategy for improving enzyme properties - application to oxidoreductases // *Molecules*. 2014. Vol. 19. № 7. P. 8995–9018. doi: 10.3390/molecules19078995
11. Labus K., Turek A., Liesiene J., Bryjak J. Efficient *Agaricus bisporus* tyrosinase immobilization on cellulose-based carriers // *Biochemical Engineering Journal*. 2011. Vol. 56. № 3. P. 232–240. doi: 10.1016/j.bej.2011.06.012
12. Selinheimo E. Tyrosinase and laccase as novel crosslinking tools for food biopolymers: dissertation. Helsinki: Helsinki University of Technology, 2008. 119 p.
13. Bankar S.B., Bule M.V., Singhal R.S., Ananthanarayan L. Glucose oxidase - an overview // *Biotechnology Advances*. 2009. Vol. 27. № 4. P. 489–501. doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.04.003
14. Guo Z., Xu X. New opportunity for enzymatic modification of fats and oils with industrial potentials // *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2005. Vol. 3. № 14. P. 2615–2624. doi: 10.1039/b506763d
15. Wilson D.B. Cellulases and biofuels // *Current Opinion in Biotechnology*. 2009. Vol. 20. № 3. P. 295–299.