

4. Ромашенко М.І., Рокочинський А.М., Шалай С.В. Прогноз продуктивності осушуваних земель при будівництві й реконструкції меліоративних систем // Вісник аграрної науки, 2007.- №6.- С.62-65.
5. Трускавецький Р.С., Шматок В.І., Зміна ресурсо- і екологічно-відтворних функцій гідроморфних ґрунтів під впливом осушення та використання// Вісник аграрної науки, №3.- 1998.- С.62-66.

УДК 54:37.013

## ЕКОЛОГІЧНІ ПЕРЕВАГИ ІММОБІЛІЗАЦІЇ ФЕРМЕНТІВ У БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСАХ

*ГАФІАТУЛЛІНА О.Г. – к.х.н., доцент,  
ЛЯШЕНКО Є.В. – к.х.н., доцент, Херсонський ДАУ*

**Постановка проблеми.** Промислова революція вже давно поширилася на весь світ і принесла процвітання і підвищення рівня життя мільйонам людей. Однак, це зростання не обійшлося без негативних наслідків, одним з яких є вплив підвищеної індустріалізації на зміну клімату. Що це сталося в даний час і взаємозалежно, визнано більшістю дослідників зміни клімату і широкими верствами суспільства. В останні роки було запроваджено ряд біотехнологічних рішень, які можуть замінити багато хімічних процесів, результатом чого служить скорочення викидів хімічних стоків і попиту на енергоносії.

У біотехнологічних процесах використовуються продукти життєдіяльності живих організмів для одержання промисловим способом живильних речовин. Надзвичайно складна система управління життєвими процесами в організмах базується значною мірою на каталізі. Насамперед мова йде про використання ферментів - біологічних каталізаторів, які мають білкову природу. За багатьма своїми властивостями, насамперед активності й вибіркової дії (специфічності), ферменти набагато переважають хімічні каталізатори. Вони забезпечують здійснення хімічних реакцій без високих температур і тисків, а прискорюють їх у мільйони й мільярди разів. Механізм прискорювання ферментативних реакцій пояснюється специфікою перебігу проміжних стадій за участю каталізатора. Особливість цих реакцій полягає в тому, що енергія активації їх нижча, а каталізатор не витрачається та регенерується у вільному стані. Висока ефективність ферментативних реакцій пояснюється тим, що молекули ферментів під час своєї діяльності безперервно регенеруються. При цьому кожний фермент каталізує тільки одну певну реакцію.

Огляду різноманітних ферментативних процесів, що позитивно впливають на стан навколишнього середовища, присвячена дана робота. Це особливо актуально в нашій країні з огляду на зародковий стан промислового органічного синтезу взагалі і мікробіологічного зокрема.

**Стан вивчення проблеми.** Біокаталітичні процеси – один з найважливіших факторів конверсії органічних відходів, речовин, харчових решток у природних та штучних умовах. У природних умовах ферментативні реакції розкладу органічних речовин достатньо інтенсифіковані. Хімічні реакції у природі перебігають у при-

сутності ферментів. Усі ферменти є білками, це потужні та селективні каталізатори, що у мільйони разів прискорюють процеси, які відбуваються в живому організмі, причому для кожної реакції існує свій єдиний фермент. Деякі білки виконують транспортні функції і переносять молекули або йони в місця синтезу чи накопичення. Наприклад, гемоглобін крові переносить до тканин кисень. Із білків побудовані кісткові, м'язові, покривні тканини. Білки відіграють важливу роль в імунній системі організму. Існують специфічні білки, котрі можуть розпізнавати та зв'язувати такі чужорідні об'єкти, як бактерії, віруси і таким чином попереджувати захворювання або допомагати системі боротися з ними.

Біологічні каталізатори можливо використовувати навіть не витягаючи їх з живих організмів. Але тут виникає принципове ускладнення: багато ферментів після їхнього витягу з клітки дуже швидко інактивуються, руйнуються. Ні про яке багаторазове їхнє використання не може бути й мови.

Однак учені знайшли вирішення проблеми. Для того, щоб стабілізувати ферменти, зробити їх стійкими, придатними для багаторазового, тривалого промислового використання, ферменти приєднують до носіїв – йонообмінних полімерів, плівок, поліорганосилоксанів, силікагелю, пористому склу, полісахаридів і т.п. Імобілізовані ферменти значно розширюють область використання ферментів. Для них у якості носія застосовують як синтетичні високомолекулярні речовини, так і силікагель, кераміку, пористе скло. Імобілізовані ферменти мало розчинені у воді. Вони мають підвищену стійкість, їх використання економічно ефективно. У результаті ферменти стають стійкими, наприклад, до нагрівання і можуть використовуватись значно довше.

Методи, які використовуються для іммобілізації ферментів, можуть бути віднесені до чотирьох головних типів [1]:

- Фізична адсорбція на інертному носії. Метод заснований на неспецифічній взаємодії білка ензиму з поверхнею матриці. Він дуже простий, дешевий, легко здійснений, однак ензим легко вимивається з поверхні носія через слабку адсорбцію.
- Упровадження в решітку полімерного гелю. Так, молекули ферменту захоплюються між макромолекулами полімеру при проведенні полімеризації. Згодом полімерну матрицю подрібнюють. Ферментативна активність таких часток невисока, тому що субстрату важко дифундувати до ензиму крізь пори полімеру.
- Зшивка молекул ензиму між собою. Це приводить до збільшення його молярної маси й, природно, до зниження рухливості. Однак процес дорогий і найчастіше сильно знижує ферментативну активність через істотну зміну структури активних центрів ензиму.
- Нарешті, ковалентне зв'язування з нерозчинною підложкою- найбільше інтенсивно досліджувана й перспективна технологія іммобілізації. Для полегшення реакції необхідно підбирати носії з певними функціональними групами типу аміно-, гідрокси-, карбокси- і т.д. Як правило, ферментативна активність при такій іммобілізації знижується несуттєво.

Підвищення стійкості іммобілізованих ферментів значно розширює можливість їхнього застосування. Використання ферментів дозволяє замінити громіздкі, енергоємні технологічні процеси на м'які й високоефективні. Підложки з іммобілізованою мікрофлорою істотно підвищують ефективність процесів біологічного очищення стічних вод [2]. Теоретичні дослідження в області охорони природних вод від забруднення ведуться у тому числі на розробці комплексу заходів з метою

покращення використання водних ресурсів та охорони вод та максимального упередження негативного впливу господарської діяльності на навколишнє середовище. Контроль якості води поверхневих водоймищ України свідчить про забруднення їх неочищеними або недостатньо очищеними водами. Найбільше потерпає від забруднення р. Дніпро. У дніпровських водах контактують органічні компоненти рослинного розпаду, гумінові речовини з торф'яних боліт, сполуки марганцю, заліза; кисень унаслідок життєдіяльності фітопланктону та хімічні сполуки із відходів комунальних і промислових підприємств.

У результаті антропогенного впливу в природні води потрапляють як йони, подібно до тих, що звичайно входять до складу незабруднених вод (сульфати, хлориди, натрій), так і компоненти, які в природних водах не спостерігаються (пестициди, синтетичні поверхневі активні речовини, важкі метали).

Складна система управління життєвими процесами в організмах базується значною мірою на каталізі. Можливість збільшення тривалості перебування ферментів у реакційному середовищі знижує витрати субстрату й значно зменшує приріст надлишкової біомаси. Остання обставина має немаловажне значення з урахуванням витрат на утилізацію великих кількостей біомаси активного мулу у стандартних технологіях водоочистки. До того ж менша вологість біоплівки порівняно з біомасою активного мулу традиційних аеротенків дозволяє легше відокремлювати її з очищеної води у вторинних відстійниках.

Широкі дослідження іммобілізованих ферментів відносяться до виробництва спирту з різних вуглеводів, і не тільки цукроподібних. Великий огляд по етанолу з описом реактора з іммобілізованими клітинами наведено у роботі [3].

У статті грецьких учених [4] знову підкреслюються позитивні сторони іммобілізації. Штам алкоголетривких мікроорганізмів *Visanto 1*, іммобілізований на мінералі кіссирісі, виявився придатним для низькотемпературного виробництва вина. При 5°C продуктивність етанолу при ферментації виявляється рівною тій, що досягається звичайним способом при 22..25°C. Вважається, що таке прискорення реакції ферментації пов'язане зі зниженням енергії активації, викликаним сприянням мінералу кіссирісу. Безперервнодіючий реактор працював 75 днів без зниження продуктивності етанолу. І нарешті отримане вино мало більш низьку загальну й летючу кислотність порівняно з винами, отриманими у природній ферментації при 22..25°C.

Біокаталізатор на основі штаму *Saccharomyces cerevisiae* (Uvaferme 299), іммобілізованого на ізюмі, для виробництва білого вина [5] працює при температурі 15–25 °C. Отримане вино мало низьку концентрацію летких кислот і низький вміст метанолу й ацетальдегіду, у той час як леткі побічні продукти практично не відрізнялися від тих, що одержуються при ферментації звичайними мікроорганізмами.

В останні десятиліття виявляється явний інтерес дослідників до складної проблеми переробки токсичних лігноцелюлозних гідролізатів. Рішення її дало б можливість одержати дешевий доступ до величезних запасів біоетанолу з відходів деревини й одночасно знизити екологічне навантаження на природу в результаті їхнього знищення. Запропоновані методи, однак, не дозволяють вирішити численні аспекти промислових виробництв. Проте робота [6], на думку самих авторів, має гарний потенціал саме в індустріальному аспекті. Досягнуто добрі показники як по конверсії цукрів в етанол, так і по ступеню регенерації дріжджів.

У роботі [7] вивчені 4 підложки для іммобілізації дріжджових клітин при виробництві біоетанолу. Найкращою виявилася рисова лущайка.

Безперервний процес ферментації цукрів у гідролізатах деревини здійснюється за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* CBS 8066, іммобілізованих у Саальгінатних бусинках [8].

**Висновки та пропозиції.** Біокаталітичні процеси – один із найважливіших факторів конверсії органічних відходів. Природні процеси гідролізу, окиснення, деполімерізації, деструкції органічних решток рослин та тварин, що містять целюлозу крохмаль, цукри, хітин, захищають життєвий простір від паралічу. Ці реакції достатньо інтенсифіковані за рахунок ферментативних процесів. Отже, створення іммобілізованих ферментів, так звана інженерна ензимологія, – один з нових напрямів біотехнологій. Досягнуто лише перших успіхів. Але вони істотно перетворили прикладну мікробіологію, технічну біохімію й ферментну промисловість. Виникли нові області виробництва, пов'язані з одержанням саме іммобілізованих ферментів. Створення нових ферментних препаратів відкрило можливість організації ряду нових виробництв для одержання потрібних речовин за допомогою біологічних каталізаторів.

Перспектива їхнього застосування в тому, що вони забезпечують чистоту виробництва, виключають забруднення навколишнього середовища (немає продуктів згоряння, відходів сільськогосподарського виробництва, перевантаження очисних споруджень), зменшують кількість необхідної енергії. Розробка й упровадження таких ефективних технологій – це актуальна проблема народного господарства.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. IMMOBILIZED ENZYMES by M. K. Goel, 1994. [www.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/IMMOB/goel2nd.htm](http://www.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/IMMOB/goel2nd.htm).
2. Моделирование процессов биологической очистки сточных вод в системах с иммобилизованной микрофлорой. Магистерская работа. [bankrabot.com/work/work\\_69195.html?similar=1](http://bankrabot.com/work/work_69195.html?similar=1).
3. Fermentation of Ethanol. [www.andrew.cmu.edu/user/.../Fermentation%20of%20Ethanol/Fermentation%2000...](http://www.andrew.cmu.edu/user/.../Fermentation%20of%20Ethanol/Fermentation%2000...)
4. V.Bakoyianis, M.Kanellaki, A.Kaliafas, A.A.Koutinas (Greece). Low-Temperature Wine Making by Immobilized Cells on Mineral Kissiris. *J.Agric.Food Chem.* 1992, 40, 1293-1296.
5. A. Tsakiris a, A. Bekatorou b, C. Psarianos b, A. A. Koutinas b, R. Marchant c and I. M. Banat. Immobilization of yeast on dried raisin berries for use in dry white wine-making. *Food Chemistry*. Volume 87, Issue 1, August 2004, Pages 11-15
6. Ronny Purwadi, Tomas Brandberg, Mohammad J. Taherzadeh. A Possible Industrial Solution to Ferment Lignocellulosic Hydrolyzate to Ethanol: Continuous Cultivation with Flocculating Yeast. *Int. J. Mol. Sci.* 2007, 8, 920-932. [www.mdpi.org/ijms/papers/i8090920.pdf](http://www.mdpi.org/ijms/papers/i8090920.pdf)
7. Debabrata Das, Nandkishor R. Gaidhani, Krishna Murari, Paritosh Sen Gupta. Ethanol production by whole cell immobilization using lignocellulosic materials as solid matrix. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Volume 75, Issue 2, 1993, Pages 132-137.
8. Mohammad J. Taherzadeh, Ria Millati, Claes Niklasson. Continuous cultivation of dilute-acid hydrolysates to ethanol by immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. Volume 95, Number 1(2001). [www.springerlink.com/index/M70Q67K2X2737373.pdf](http://www.springerlink.com/index/M70Q67K2X2737373.pdf).