

ТЕХНОЛОГІЯ ПРОДУКТІВ БРОДІННЯ, БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА ФАРМАЦІЯ

УДК 577.154

Р.О. Росолова, С.Р. Мельник, Є.М. Мокрий
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології органічних продуктів

ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕРМОСТАБІЛЬНОСТІ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ АМІЛОГЛЮКАВАМОРІН Гх-466

© Росолова Р.О., Мельник С.Р., Мокрий Є.М., 2000

Досліджено вплив тривалості теплової обробки та концентрації хлориду кальцію на активність ферментного препарату Амілоглюкаваморін Гх-466. Встановлено можливість підвищення активності амілолітичних ферментів та оптимальні умови їх активації.

The influence of heating time and salt concentration on activity of enzyme preparation Amyloglucawamoryne Lx-466 has been studied. Possibility enhancement of amylolytical enzyme activity and optimal conditions its activation has been found.

Ферментний препарат (ФП) Амілоглюкаваморін Гх-466 – продукція Вузьлівського державного спиртозаводу, яка використовується на багатьох спиртових підприємствах Львівщини для оцукрення крохмалистої сировини. Регламентована амілолітична активність ферментів (Азд) – 30 ± 5 од./мл. Тривалість збереження культури без втрати активності при температурі 285–288 К – не менше 200 год [1]. Відомо, що зміна температури та добавки деяких хімічних речовин мають суттєвий вплив на активність та стабільність ензимів [2].

Таблиця 1

Вплив температури на амілолітичну активність ферментного препарату Амілоглюкаваморін Гх-466

Час, хв	Температура, К							
	303	313	323	333	303	313	323	333
	Без CaCl ₂				У присутності $1 \cdot 10^{-4}$ моль CaCl ₂ /л ФП			
Необроблений (Азд ₀)					27,4	21,0	20,0	20,4
0	22,1	22,0	21,0	17,4	19,2	21,1	18,0	16,3
15	22,2	20,3	19,2	8,1	22,5	22,0	18,7	10,9
30	22,2	22,1	20,3	6,8	22,8	21,3	16,8	4,2
45	21,3	22,0	21,0	8,7	27,9	20,0	24,7	6,9
60	25,3	23,4	18,7	8,1	32,4	26,9	26,9	0,3
75	25,3	24,9	21,9	6,2	35,1	21,1	25,3	0,3
90	20,7	22,5	19,9	8,1	27,2	24,2	25,0	0,3
105	21,6	27,2	22,9		34,4	22,0	22,1	
120	25,7	26,5	20,8		27,8	23,0	23,2	

У лабораторних умовах досліджено термостабільність ФП Амілоглюкаваморіну Гх-466 в інтервалі температур 303–333 К. Теплову обробку ензимів проводили у скляних пробірках у термостаті протягом 2 год. Амілолітичну активність ферментів визначали колориметричним методом [3] через кожні 15 хв і виражали у відсотках від активності непрогрітого ферментного препарату. Також вивчено вплив хлориду кальцію, внесеного у вигляді розчину в дистильованій воді у кількості 1 мл на 120 мл ФП. Концентрація доданої солі в препараті становила $(0,75-7,5) \cdot 10^{-4}$ моль/л ФП, концентрація іонів кальцію у вихідному препараті – $2,3 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

Результати теплової обробки на ФП подано у табл.1. Встановлено, що при термостагуванні Амілоглюкаваморіну Гх-466 при постійній температурі протягом 2 год спостерігаються коливання активності амілолітичних ферментів, істотне підвищення якої має місце при 60–75- та 105–120-ти хвилинній витримці препарату при температурах 303 та 313 К. При температурі 323 К активність ензимів змінюється менше. Теплова обробка при 333 К веде до різкого її зменшення порівняно з початковою вже на 15-ій хв обробки, надалі вона коливається в межах 6,2-8,7 од./мл (табл.1).

Таким чином, теплова обробка Амілоглюкаваморіну Гх-466 при 303-313 К протягом вказаного часу дає змогу підвищити його амілолітичну активність на 7–24% (рис. 1). Зміну активності протягом певного часу при постійній температурі деякі автори пояснюють існуванням декількох перехідних конформацій ферменту, які характеризуються різною активністю [2].

Відомо, що іони кальцію можуть стабілізувати амілази. Додавання хлориду кальцію в кількості, що відповідає концентрації солі $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л ФП (табл.1), насамперед веде до різкого падіння амілолітичної активності після змішування препарату з водним розчином солі. Надалі при температурах 303 і 323 К та збільшенні тривалості витримки до 45 хв АЗд піднімається до її початкового значення і перевищує його, відповідно, а починаючи з 60 хв активність ФП обробленого хлоридом кальцію більша, ніж її початкове значення на 5–34 %

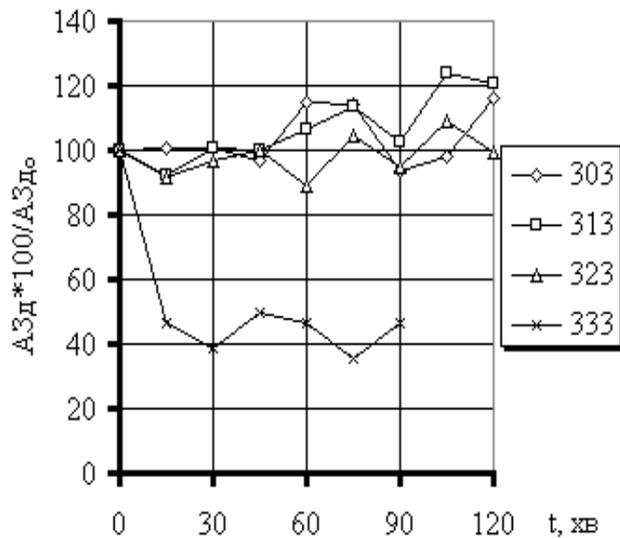


Рис. 1. Вплив температури на відносну активність амілолітичних ферментів препарату Амілоглюкаваморін Гх-466

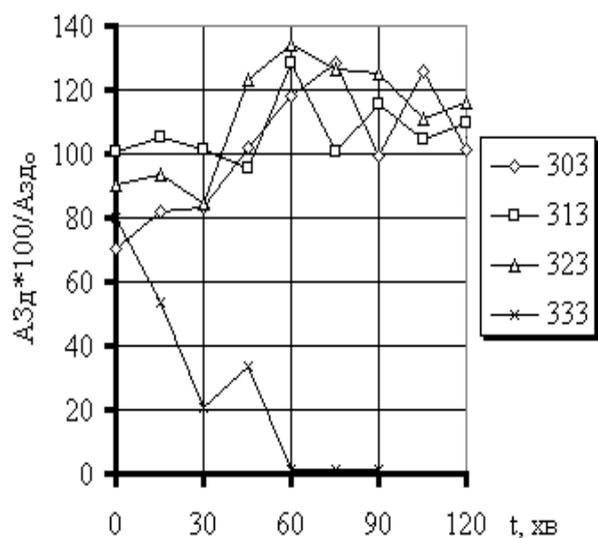


Рис. 2. Вплив температури на відносну активність амілолітичних ферментів у присутності добавки хлориду кальцію концентрацією $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л ФП

(рис. 2). Аналогічна кількість доданого хлориду кальцію при термостатуванні ФП при 314 К протягом перших 45 хв обробки на його активність практично не впливає. Максимум АЗд – 26,9 од./мл спостерігається при тепловій обробці Амілоглюкаваморіну Гх-466 протягом 60 хв (табл.1). При 333 К активність ФП в присутності хлориду кальцію падає до 20 % від початкової на 30-ій хв, а витримка препарату понад 60 хв при цій температурі майже повністю інактивує фермент.

Таблиця 2

Вплив концентрації доданого хлориду кальцію на амілолітичну активність ферментного препарату Амілоглюкаваморін Гх-466

№ п/п	Тривалість обробки, хв.	Амілолітична активність (в од./мл) при концентрації іонів Ca^{2+} (моль/л ФП)					
		0	0,000075	0,0001	0,00025	0,0005	0,00075
1	Необроблений (АЗд ₀)	-	21,7	27,4	24,7	25,3	22,2
2	0	23,2	12,9	19,2	16,9	13,9	15,8
3	15	22,0	21,6	22,5	20,1	22,0	24,2
4	30	11,1	19,5	22,8	18,7	20,7	20,1
5	45	20,2	24,3	27,9	19,9	23,4	21,6
6	60	28,0	28,0	32,4	21,7	25,5	26,2
7	75	25,7	31,4	35,1	27,9	28,2	24,3
8	90	12,1	16,7	27,2	23,2	24,2	19,7
9	105	21,2	21,3	34,4	24,4	24,1	22,7
10	120	25,7	18,7	27,8	26,7	25,4	21,9

Встановлено, що кількість доданої солі при постійній температурі (303 К) по-різному впливає на активність ФП (табл.2). Максимальне збільшення АЗд спостерігається при внесенні хлориду кальцію у кількості, що відповідає концентрації солі $7,5 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л ФП при тривалості обробки препарату 60–75 хв.

Таким чином, теплова обробка препарату Амілоглюкаваморін Гх-466 у певному температурному режимі у присутності іонів кальцію дає змогу підвищити амілолітичну активність наявних у ньому ферментів, що може сприяти зменшенню його витрати при промисловому використанні.

1. ТУ 10-04-03-04-86. Препарат ферментный Амилоглюкаваморин Гх-466. 2. Влияние некоторых физико-химических воздействий на активность амилосубтилина Г10х / А.Л.Бачурин, С.М.Зубкова и др. // Ферментная и спиртовая промышленность. 1982. № 2. С. 34–38 3. ГОСТ 20264.4-74. Препараты ферментные. Методы определения амилаолитической активности.