

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Шеламова Светлана Алексеевна

д-р техн. наук, профессор, доцент

Дерканосова Наталья Митрофановна

д-р техн. наук, профессор, проректор

по учебной работе, заведующая кафедрой

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный
аграрный университет им. императора Петра I»

г. Воронеж, Воронежская область

ВЛИЯНИЕ АКТИВНОСТИ ВОДЫ НА СКОРОСТЬ РЕАКЦИИ ЭТЕРИФИКАЦИИ

Аннотация: в статье рассматривается максимальная скорость реакции этерификации глицерина и олеиновой кислоты, катализируемых ферментом липазы в органических средах, которая наблюдалась в диапазоне активности воды 0,5–0,8.

Ключевые слова: липаза, этерификация, активность воды.

В связи с развитием экологически безопасных технологий продуктов питания актуальными являются исследования энзимной переэтерификации жиров. Разработке производственных процессов предшествует изучение особенностей катализа, которые обусловлены свойствами фермента.

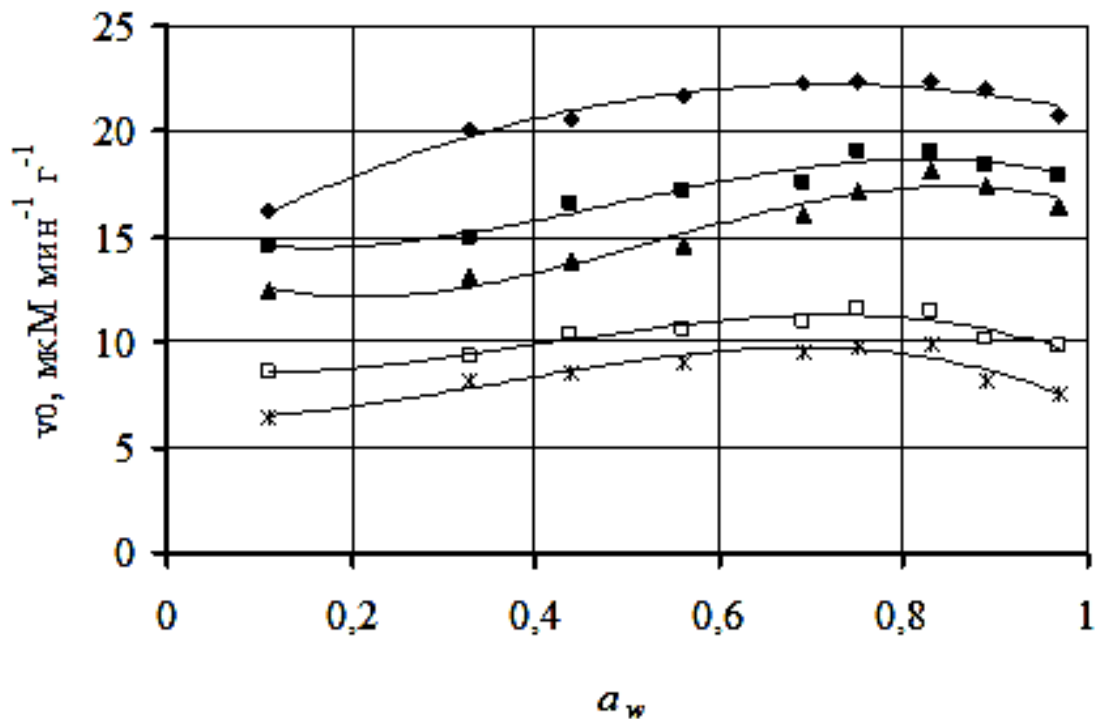
Настоящая работа посвящена изучению влияния активности воды на скорость реакции этерификации глицерина и олеиновой кислоты под действием иммобилизованного препарата липазы Rh. oryzae 1403 в системах с органическими растворителями.

Химические и физические свойства фермента в значительной степени зависят от прямой или косвенной роли воды во всех нековалентных взаимодействиях (электростатических, водородных, вандерваальсовых, гидрофобных). Вода, таким образом, поддерживает каталитическую конформацию фермента.

При проведении процессов в среде с органическими растворителями вода в реакционной системе распределяется между ферментом, носителем, растворителем, субстратами и продуктами реакции. Поэтому количество воды становится некорректным параметром [1–3]. По этой причине в экспериментах по исследованию влияния растворителей на ход реакций трансэтерификации использовался показатель активности воды a_w .

Величина a_w создавалась с помощью насыщенных растворов солей. Ферментный препарат предварительно высушивали под вакуумом и выдерживали в эксикаторе с P_2O_5 . Уравновешивание проводили при 30 °С 48 ч. Предуравновешивание растворителей и субстратов проводили в течение 7 суток. Начальную скорость рассчитывали по тангенсу угла наклона начального линейного отрезка кинетических кривых убывания кислоты.

Были испытаны растворители смешивающиеся и несмешивающиеся с водой, с различной гидрофобностью, характеризуемой коэффициентом распределения $\log P$: бутанон (0,28), дипропиловый эфир (1,9), бензол (2,0), гексан (3,5). Зависимость скорости реакции этерификации от a_w была подобна со всеми выбранными растворителями; максимальные ее значения наблюдались в диапазоне a_w 0,5–0,8 (рисунок 1).



(◆) гексан; (■) без растворителя; (▲) бензол; (□) бутанон;
 (*) дипропиловый эфир

Рис. 1. Скорость этерификации глицерина и олеиновой кислоты как функция a_w в системах с органическими растворителями

Снижение скорости реакции при дальнейшем увеличении a_w происходит прежде всего из-за конкуренции между гидролизом и алкоголизом промежуточного соединения – ацил-фермента.

При любой активности воды на скорость трансэтерификации оказывал влияние вид растворителя: в гексане она была выше по сравнению с реакционной системой без растворителя, а более полярные растворители приводили к ее снижению.

Если органический растворитель полностью вытесняет воду, то белок денатурирует, фермент теряет активность. В то время как необходимость воды очевидна, количество ее для действия фермента не всегда ясно. Одна общая гипотеза состоит в том, что молекула фермента требует малого уровня гидратации, который действует как краевой компонент ферментной микросреды. Этот слой работает как буфер между поверхностью фермента и объемом реакционной среды. В

этом случае мало вероятно, что на молекулу фермента будет воздействовать водная фаза вне уровня гидратации (то есть водная фаза в объеме), если существенный сдвиг ферментной микросреды не вызывается реакционной средой в объеме. Однако полярный растворитель – дипропиловый эфир в связи с высокой полярностью может удалять воду, необходимую для сохранения каталитической активности фермента.

Список литературы

1. Barahona D. Effect of water activity on the lipase catalyzed esterification of geraniol in ionic liquid [Text] / D. Barahona, P.H. Pfromm, M.E. Rezac // *Biotechnol. Bioeng.* – 2006. – V. 93. – №2. – P. 318–324.

2. Halling P.J. Thermodynamic predictions for biocatalysis in nonconventional media: Theory, tests, and recommendations for experimental design and analysis: review [Text] / P.J. Halling // *Enzyme Microbiol. Technol.* – 1994. – V. 16. – P. 178–205.

3. Valivety R.H. Reaction rate with suspended lipase catalyst shows similar dependence on water activity in different organic solvents [Text] / R.H. Valivety, P.J. Halling, A.R. Macrae // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1992. – V. 1118. – P. 218–222.