мые и внедряемые информационные технологии не становятся инородным элементом в традиционной системе образования, а естественным образом синтегрированы в него и сочетаются с традиционными технологиями обучения.

Применяемые в учебном процессе инструментальные средства как для различных типов и видов занятий, так и игровые задачи, с привлечением вычислительной техники позволяют студенту не только с интересом овладевать знаниями, но и самовыразиться как личности.

Использование на занятиях учебного моделирования способствует наглядному представлению изучаемого материала и повышению интереса к занятиям, более глубокому и качественному его усвоению. При этом обучаемый получает дополнительные возможности для творческого поиска и организации совместной с преподавателем деятельности

Все это открывает возможность отказаться от свойственных традиционному обучению рутинных видов деятельности студента, предоставив ему интеллектуальные формы труда.

Одним из направлений применения в учебном процессе нетрадиционных учебных технологий могут стать тесты, алгоритмы, кроссворды и глоссарии по изучаемым темам, а контроль знаний осуществлять с применением IBM.

Особо необходимо отметить и тот факт, что определяющими факторами компьютеризации учебного процесса являются знания и навыки самого профессорско-преподавательского состава, которые должны и сами проходить соответствующую подготовку.

Использование в учебном процессе новых информационных технологий целесообразно как для преподавателей, так и для студентов.

## БИОСИНТЕЗ ИЗОМАЛЬТУЛОЗОСИНТАЗЫ LEUCONOSTOC MESENTEROIDES SUBSP. MESENTEROIDES

Корнеева О.С., Божко О.Ю., Корнеева М.М.
*Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж*

В настоящее время получение природных заменителей сахара является одной из актуальных проблем пищевой биотехнологии. Изомальтулозосинтаза (сахарозоизомераза, α-гликозилтрансфераза) – фермент, который катализирует превращение сахарозы в изомальтулозу. Изомальтулоза (6 – O – α – D - глюкопиранозид-D-фруктоза) – редуцирующий дисахарид, состоящий из остатков глюкозы и фруктозы, соединенных α-1,6-гликозидной связью.

Изомальтулоза встречается в меде, в соке сахарного тростника. Масса ее схожа с сахарозой, сладость составляет 42 % сладости сахарозы. Изомальтулоза не вызывает кариеса зубов, ее переваривание незначительно влияет на концентрацию глюкозы и инсулина в крови, устойчива в кислых растворах. За рубежом изомальтулоза широко используется как заменитель сахарозы в продуктах диабетического назначения, безалкогольных напитках, в медицине.

Однако в России исследования по получению изомальтулозы практически отсутствуют. В литературе описывается два типа изомальтулозопродуцирующего фермента. Один из них способствует образованию изомальтулозы как побочного продукта, например, при каталитическом действии фермента декстрансахаразы *Leuconostoc mesenteroides*. Второй тип фермента способствует образованию изомальтулозы как одного из нескольких конечных продуктов в процессе каталитического превращения сахарозы.

Известно, что такие микроорганизмы как *L. mesenteroides* и *Streptococcus bovis* продуцируют декстран и фруктозу в процессе их роста на среде, содержащей сахарозу. При этом также формируются редуцирующие дисахариды, такие как лейкроза и изомальтулоза в качестве побочных продуктов процесса образования декстрана.

В литературе более детально исследуется процесс биосинтеза декстрана бактериями *L. mesenteroides*. Вопросы образования вторичных продуктов этого процесса освящены недостаточно.

На кафедре микробиологии и биохимии Воронежской государственной технологической академии в качестве продуцента изомальтулозосинтазы использовали бактерии *L. mesenteroides subsp. mesenteroides*. Микроорганизм выращивали на MRS-агаре. Культивирование проводили в аэробных условиях на среде, содержащей сахарозу, дрожжевой экстракт, минеральные соли на круговой качалке в течение 3 суток при температуре 26 °С. Количественное определение изомальтулозы осуществляли по методу Сомоджи-Нельсона, качественное определение - с использованием тонкослойной хроматографии.

Изучена динамика биосинтеза изомальтулозосинтазы *L. mesenteroides*. Максимальная активность фермента наблюдалась к 12 часам культивирования при выращивании на среде, содержащей 17,5 % сахарозы; с исходным значением pH 7,0; при температуре 27 °С; соотношение объема среды к объему кислорода – 1:3,75.

Полученная изомальтулозосинтаза может быть успешно применена в технологии продуктов функционального назначения.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИПАЗЫ YARROWIA LIPOLYTICA W 29 ДЛЯ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ МАСЛОЖИРОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Корнеева О.С., Капранчиков В.С., Мотина Е.А, Тарасевич Т.В.
*Воронежская Государственная Технологическая Академия, Воронеж*

В настоящее время одной из наиболее важной проблемой является утилизация масложировых отходов. Рациональная переработка растительного сырья предполагает наиболее полное использование его исходных компонентов для перехода на малоотходную и безотходную технологию производства. В связи с этим на кафедре микробиологии и биохимии ВГТА проводятся работы по изучению липолитической ак-

тивности микроорганизмов с целью разработки технологии утилизации жиросодержащих отходов масложировой промышленности.

В качестве продуцента липазы использовали культуру дрожжей Yarrowia lipolytica W 29. Культивирование проводили в качалочных колбах объемом 750 мл при температуре 28 – $30^0$ С на среде следующего состава: глюкоза, $MgSO_4$, дрожжевой экстракт, $K_2HPO_4$, $CaCO_3$, мочевина, пептон, соевая мука, оливковое масло; при начальном значение pH = 7,0 – 7,3. В качестве субстрата применяли поливиниловый спирт и подсолнечное масло. Гидролиз проводили при $37^0$ С в течение 1 часа, после чего добавляли 15 мл этилового спирта и продукты гидролиза оттитровывали 0,1 Н раствором NaOH в присутствии 1%-ного раствора фенолфталеина. Раствор фермента в контрольных образцах добавляли непосредственно перед титрованием. Липолитическую активность выражали в мкмоль олеиновой кислоты, освобождающейся за 1 час в результате гидролиза субстрата.

Нами проводились работы по замене подсолнечного и оливкового масла на отход масложировой промышленности – соапсток, состоящий из 40 % жировой части и 60 % воды.

Для адаптации микроорганизма происходили частичную замену МПА на соапсток до 50 %.

Установлено, что замена оливкового масла на соапсток в составе питательной среды при культивировании дрожжей Yarrowia lipolytica W 29 приводит к незначительному снижению липолитической активности.

При гидролизе подсолнечного масла и соапстока в качестве субстрата образуется равное количество выделившихся свободных кислот.

Таким образом, исследуемая нами липаза Yarrowia lipolytica W 29 может быть успешно использована для гидролиза соапстока с целью выделения свободных жирных кислот.

## КАРБОГИДРАЗЫ: СТРУКТУРА И СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ

Корнеева О.С., Черемушкина И.В., Свиридова Т.В., Чигирина Н.А.
*ГОУВПО «Воронежская государственная технологическая академия», Воронеж*

Одной из наиболее актуальных проблем современной энзимологии является исследование структуры ферментов и расшифровка механизма их каталитического действия. Особого внимания в этих исследованиях заслуживают карбогидразы (О-гликозидгидролазы), так как реакции ферментативного гидролиза олиго- и полисахаридов обусловлены как сугубо фундаментальными, так и прикладными задачами.

В связи с этим нами исследована структура активных центров и кинетика действия ряда гликозидаз: инулиназы, β-фруктофуранозидазы, β-галактозидазы, что позволило выявить общие закономерности катализируемых ими реакций и развить идею об идентичности механизма расщепления гликозидных связей в олиго- и полисахаридах.

Установлено, что каталитически активными группами в исследованных нами карбогидразах являются карбоксильная группа либо аспарагиновой, либо глутаминовой аминокислот и имидазольная группа гистидина Наличие в каталитических центрах карбогидраз карбоксильной и имидазольной групп дает основание считать, что механизм расщепления гликозидных связей в олиго- и полисахаридах этими ферментами идентичен.

Особенности строения активных центров исследуемых ферментов, проявляются в их субстратной специфичности, в частности по отношению к длине субстрата.

Как истинная галактозидаза, β-галактозидаза *Penicillium canescens* специфична к гликоновой части молекулы субстрата и проявляет меньшую специфичность к агликону.

Специфичность и характер действия фруктозидаз были исследованы в реакциях гидролиза различных фруктозосодержащих поли- и олигосахаридов. Установлено, что инулиназа *Aspergillus awamori* и кроме инулина способна гидролизовать стахиозу, раффинозу, сахарозу и леван, то есть проявляет химическое сродство как к β-2,1-, так и β-2,6-фруктозидной связи в олигофруктозидах. Анализ продуктов гидролиза субстратов инулиназой из *A. awamori* методом ВЭЖХ показал, что основным продуктом этой реакции является фруктоза, и фермент относится к экзодействующим гликозидгидролазам. Активность экзоинулиназы *A. awamori* по отношению к левану и β-2,6-фруктоолигосахаридам со степенью полимеризации 3 – 6 выгодно отличает ее от других инулиназ, однако скорость гидролиза левана существенно ниже, чем скорость гидролиза инулина, что объясняется различиями в пространственной структуре этих фруктанов.

Для того, чтобы выяснить, с какими особенностями в молекулах дрожжевых β-фруктозидаз связаны их инвертазная и инулиназная активности, исследовали способность β-фруктозидазы *Kluyvermyces marxianus* к гидролизу различных фруктоолигосахаридов. Полученная высокоочищенная β-фруктозидаза также гидролизовала наряду с сахарозой раффинозу, стахиозу, инулин и леван. При кислотной и термической инактивации отношение инулазной активности (I) фермента к инвертазной (S) было постоянной величиной. Способность гидролизовать леван отмечена и для некоторых других инвертаз. Проявление активности фермента по отношению к левану заслуживает особого внимания, так как даже многие инулиназы не гидролизуют данный полисахарид. Способность гидролизовать любой субстрат с β-фруктозидной связью не является очевидной особенностью каждой β-фруктозидазы.

Таким образом, изучение структуры активных центров карбогидраз и субстратной специфичности их действия позволило выявить общие закономерности катализируемых ими реакций.