

FTB 47 (4) 370-380.

(FTB-2186)

## **Proizvodnja i karakterizacija $\alpha$ -galaktozidaze fermentacijom na čvrstoj podlozi s pomoću višestruko mutiranog soja *Aspergillus niger***

### **Sažetak**

U industriji se  $\alpha$ -galaktozidaza primjenjuje radi povećanja prinosa šećera iz sirupa šećerne repe te poboljšanja hranjive vrijednosti sojinog mlijeka. U radu je ispitan utjecaj varijabli procesa na proizvodnju ovog važnog enzima fermentacijom na čvrstoj podlozi s pomoću novoizoliranog višestruko mutiranog soja *Aspergillus niger*. Procijenjeni su sljedeći parametri: supstrat (čista laktoza te nusprodukti meljave riže i brašna), izvor dušika, vrijeme inkubacije, početna pH-vrijednost podloge i temperatura inkubacije. Nakon 96 sati fermentacije dobiveno je 135,4 IU ekstracelularne galaktozidaze po g suhe podloge. Dodatak od 2 g glukoze i 3 g kukuruznog ekstrakta značajno je povećao proizvodnju enzima. S pomoću mutantnog soja postignut je kudikamo veći maksimalni prinos (318 IU/g) nego s divljim sojem (u ovom radu) ili drugim u literaturi navedenim mutantnim sojevima *A. niger*, rekombinantnim vrstama ili kvascima koji proizvode  $\alpha$ -galaktozidazu. Ispitane su tri  $\alpha$ -galaktozidaze, od kojih je ona što sadrži podjedinice proteina velike molekularne mase (99 i 100 kDa) karakterizirana i u divljem i u mutantnom soju. Toplinska svojstva pročišćenih enzima pokazuju da je mutacija smanjila energiju aktivacije potrebnu za nastajanje kompleksa enzim-supstrat, entalpiju, količinu Gibbsove slobodne energije utrošene za vezivanje supstrata i stabilizaciju prijelaznog stanja. Termodinamičkim ispitivanjem ireverzibilne inaktivacije enzima zaključeno je da enzim izoliran iz mutantnog soja ima veću termostabilnost od prirodnog enzima zbog aminokiselina u aktivnom katalitičkom procesu. Zbog toga bi se svojstva mutantni organizam mogao upotrijebiti u proizvodnji veće količine termostabilne  $\alpha$ -galaktozidaze, za njezinu primjenu u industriji šećera, te radi poboljšanja hranjive vrijednosti proizvoda.

*Ključne riječi:* entalpija, entropija, proizvodnja  $\alpha$ -galaktozidaze, Gibbsova slobodna energija, kinetika, fermentacija na čvrstoj podlozi