

Химия

УДК 663.4

Е.В. МАТЛАХОВ, А.С. ШАТОВА

(egor.matlahoff2013@yandex.ru, alinkasatova865@mail.ru)
Московский государственный университет пищевых производств

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛАЗ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ*

Дана общая оценка развития нанотехнологий на современном этапе. Приведены данные о потенциальном риске присутствия наночастиц в окружающей среде и технологических средах. Рассмотрено влияние наночастиц диоксида титана и многослойных углеродных нанотрубок на активность амилаз растительного и микробного происхождения. Отмечена целесообразность изучения влияния наночастиц оксида алюминия на амилолитическую способность ферментов и результаты процессов пивоварения, базирующихся на ферментативном катализе.

Ключевые слова: нанотехнологии, наночастицы, влияние на биообъекты, амилолитическая способность, активность амилаз.

Несмотря на то, что в течение нескольких последних десятилетий интенсивно разрабатывается и внедряется в производство множество инновационных приемов, начало XXI столетия справедливо называют «веком нанотехнологий». Наноразмерные объекты природного происхождения всегда присутствовали в экосфере планеты Земля, но лишь после прочитанной в 1960 г. Ричардом. Фейнманом лекции [3] начались интенсивные исследования способов получения, характеристик, а позднее и эффективности применения антропогенных, т. е. целенаправленно произведенных наночастиц. Результатом стало бурное развитие нанотехнологий и как области научных изысканий, и как составляющей производства продукции во многих отраслях промышленности и сельского хозяйства, в медицине [13, 20]. Изучение объектов наноразмера является основой для понимания и, более того, контроля основных «строительных блоков» материи, лучшему пониманию природы, повышению производительности, расширение границ устойчивого развития и человеческого потенциала [20]. Внедрение нанотехнологий затрагивает практически все аспекты современной жизни [16]. Наночастицы и наноматериалы применяются для производства продукции как специализированного назначения, так и массового потребления [8, 9, 10, 11, 17, 21].

Ряд разработок, посвященных потенциальным применениям наночастиц, предполагает возможность решения таким образом некоторых экологических проблем, которые, в целом, становятся все острее и острее. Все более широкое использование антропогенных наночастиц в промышленных и бытовых целях, скорее всего, приведет к попаданию таких материалов в окружающую среду. Оценка рисков присутствия наноразмерных объектов в окружающей среде требует понимания их мобильности, реакционной способности, экотоксичности и стойкости. При этом появляется возрастающее количество публикаций [4, 5, 7, 12, 23], свидетельствующих, что наночастицы могут оказывать негативное воздействие на различные биологические объекты и окружающую среду в целом. Выявлена более или менее выраженная фитотоксичность по отношению к кукурузе и рису наночастиц оксидов металлов (титана, кремния, церия, железа, алюминия, цинка и меди) [24]. Показано, что разные наночастицы оказывают негативное воздействие, интенсивность и проявление которого зависит как от вида растения, так и от концентрации. Сообщается [14], что, присутствуя в некоторых концентрациях, наночастицы оксида алюминия снижают содержание хлорофилла в двух видах пресноводных зеленых водорослей. Наночастицы того же типа оказывают негативное влияние на физиологические процессы пажитника [15] и, как следствие, его агротехнические характеристики; на основании полученных данных заключается, что одним из механизмов такого воздействия является изменение активностей важ-

* Работа выполнена под руководством Карпенко Д.В., доктора технических наук, профессора кафедры технологии бродильных производств и виноделия ФГБОУ ВО «МГУПП».

ных ферментативных систем растения. Аналогичная точка зрения высказана группой ученых, исследовавших воздействие наночастиц оксида церия на рассаду риса [19].

Высказывается логичное мнение [18, 22], что аккумуляция наночастиц растениями, являющимися сырьем пищевых производств, приведет к их попаданию в пищевые цепочки. Это представляется тем более опасным, что отмечена генотоксичность наночастиц (на примере высоких концентраций диоксида титана) по отношению к лимфоцитам периферической крови человека и культуре клеток почки человека [6]. Это позволяет предположить, что и организм человека может испытывать негативное воздействие наноразмерных объектов, попадающих в него с воздухом, водой и продуктами питания.

Весь массив имеющихся в научной литературе данных позволяет предположить, что исследование влияния наночастиц на различные объекты и процессы, в том числе, пищевых производств, является актуальным. Вследствие этого, около 10 лет назад в ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств» было начато изучение воздействия наноразмерных объектов различных типов на сырье, полупродукты, вспомогательные материалы и готовую продукцию бродильных производств, в первую очередь, пивоварения. В качестве одной из групп объектов воздействия были выбраны ферменты и ферментные препараты, активность которых определяет протекание и результаты ключевых технологических стадий, в первую очередь, биокатализаторы амилолитического типа действия. Ниже представлены обобщенные результаты нескольких серий экспериментов, проведенных с указанной целью.

Необходимо отметить, что анализируемые ниже данные были получены в разное время и различными группами исследователей, однако условия экспериментов были сходными. Это, по нашему мнению, позволяет сопоставлять полученные результаты и делать на основании этого обоснованные выводы.

Активность амилаз различного происхождения в контрольных и опытных вариантах оценивали косвенно, по количеству гидролизованного крахмала, определяя последнее по приросту редуцирующих веществ (РВ) в реакционной среде после ферментативной реакции. Субстратом для действия амилаз служил 1%-й раствор растворимого крахмала.

Амилолитическая активность солода, как основного сырья пивоваренного производства, в значительной степени определяет результаты стадии затираания, сбраживаемость пивного сусла и, как следствие, итоги стадий главного брожения и дображивания, а также качество готового пива (органолептические характеристики, содержание этилового спирта, коллоидную и биологическую стойкость напитка). Таким образом, было изучено [2] влияние на эту характеристику светлого пивоваренного ячменного солода наночастиц TiO_2 или многослойных углеродных нанотрубок (МУНТ). В качестве источника амилолитических ферментов растительного происхождения использовали солодовую вытяжку, приготовленную стандартным способом.

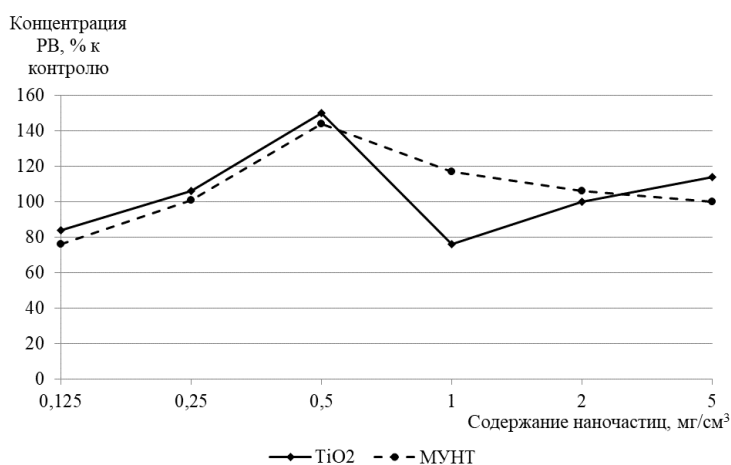


Рис. 1. Влияние различных концентраций нанопрепаратов TiO_2 и МУНТ на накопление РВ при гидролизе в течение 1 ч 1%-го раствора растворимого крахмала под действием амилаз солодовой вытяжки

В каждом из вариантов к 10 см^3 раствора субстрата (1%-го раствора растворимого крахмала) добавляли 5 см^3 солодовой вытяжки. Контрольные варианты не содержали наночастиц, тогда как в опытные нанопрепараты диоксида титана и МУНТ вносили в таком количестве, чтобы обеспечить их содержание в реакционных средах в диапазоне $0,125\text{--}5,0 \text{ мг/см}^3$. Ферментативный гидролиз крахмала проводили в течение 60 мин при $\text{pH } 4,7$ и температуре 50°C . Сразу по завершении ферментативной реакции в пробах, отобранных от образцов, определяли концентрации РВ. Полученные результаты представлены на рис. 1 (см. на рис. 91). Для удобства сопоставления приведены величины прироста концентрации РВ за время ферментативной реакции в процентах к контролю.

Данные рисунка позволяют заключить, что присутствие в реакционной среде наночастиц обоих типов в условиях экспериментов существенно влияет на амилолитическую активность солодовой вытяжки. Интенсивность и направление этого влияния зависит как от типа наноразмерных объектов, так и, в большей степени, от их содержания в среде ферментативного гидролиза. Видно, что некоторые концентрации приводят к снижению контролируемого показателя на 20% и более по сравнению с контролем, при других амилолитическая способность вытяжки практически не изменяется, а в присутствии $0,5 \text{ мг/см}^3$ наночастиц как диоксида титана, так и МУНТ зафиксирован существенный активирующий эффект.

Следует отметить, что в цитируемой работе приводятся результаты экспериментов, в которых определялось влияние продолжительности контакта наночастиц в активирующих ($0,5 \text{ мг/см}^3$ реакционной среды) и ингибирующих ($1,0 \text{ мг/см}^3$ для TiO_2 и $0,125 \text{ мг/см}^3$ для МУНТ) концентрациях. Они подтверждают сделанный вывод о сложном характере влияния наночастиц рассматриваемых типов на амилолитическую способность солодовой вытяжки, а также свидетельствуют, что с увеличением продолжительности контакта возрастает ингибирующий эффект обоих типов наноразмерных объектов и, в меньшей степени, активирующий эффект диоксида титана при его содержании в реакционной среде, равном $0,5 \text{ мг/см}^3$.

Учитывая изложенное выше, другая группа исследователей [1] определяла влияние тех же типов наночастиц на амилолитическую способность ферментного препарата микробного происхождения «Амилоризин П10х», обладающего как декстринирующей, так и осахаривающей активностью и применяемого в пивоварении и хлебопечении. Подход к проведению исследований и условия экспериментов аналогичны описанным выше, за исключением того, что в качестве объекта воздействия наночастиц диоксида титана и многослойных углеродных нанотрубок использован раствор ферментного препарата, а диапазон варьирования содержания наноразмерных объектов в реакционной среде был расширен (рис. 2).

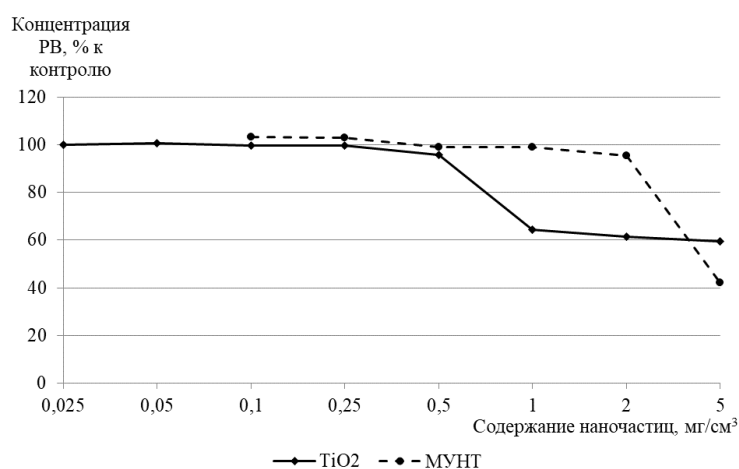


Рис. 2. Влияние различных концентраций нанопрепаратов TiO_2 и МУНТ на накопление РВ при гидролизе в течение 1 ч 1%-го раствора растворимого крахмала под действием ферментного препарата «Амилоризин П10х»

Сопоставление данных рис. 1 и 2 позволяет заключить, что наночастицы диоксида титана и МУНТ по-разному влияют на активность амилаз различного (растительного и грибного) происхождения. Во втором случае в условиях экспериментов фиксируется постепенное снижение амилазной способности ферментного препарата в опытных вариантах по сравнению с контрольными, а концентрации наночастиц, превышающие 1–2 мг/см³, вызывают существенное, на 40–60%, снижение величины контролируемого показателя.

Приведенные данные позволяют, по нашему мнению, заключить, что присутствие наночастиц различных типов в технологических средах пивоварения, по крайней мере, в высоких концентрациях, может приводить к ингибированию важных ферментов и, следовательно, ухудшать результаты всего производственного процесса в целом.

Кроме того, с нашей точки зрения, целесообразно продолжить рассмотрение влияния на ферментативные активности и технологические процессы в пивоварении, зависящие от биокатализаторов наночастиц, которые ранее не исследовались. В качестве таковых решено было выбрать нанопрепарат оксида алюминия. Наночастицы Al₂O₃ применяются (или предложены к применению) в качестве носителей лекарственных средств [8], эффективных и недорогих адсорбентов тяжелых металлов и радионуклидов в нанокompозитных мембранах, катализатора, в производстве и хранении энергии, электроники и фотоники, сенсоров и биосенсоров, пломбирочных материалов [4, 10, 21], для очистки сточных вод [9, 17] и борьбы с патогенами [11]. При этом высказывается мнение как о невысокой токсичности [6, 14, 24] наночастиц алюминия по отношению к различным биологическим и биохимическим объектам, так и об их выраженном негативном воздействии [14, 15]. О результатах запланированных исследований будет сообщено.

Литература

1. Карпенко Д.В., Дроздов С.М., Евсеева А.А. Влияние нанопрепаратов на активность амилаз // Пиво и напитки: безалкогольные, алкогольные, соки, вино. 2016. № 5. С. 28–31.
2. Карпенко Д.В., Кашанков В.О., Савина М.В. Влияние нанопрепаратов на активность амилаз светлого ячменного солода // Пиво и напитки: безалкогольные, алкогольные, соки, вино. 2017. № 6. С. 18–21.
3. Фейнман Р.Ф. Внизу полным-полно места: приглашение в новый мир физики // Российский химический журнал. 2002. Т. XLVI. № 5. С. 4–6.
4. Besh A., Liu Y., Fang C., Bekele D., Naidu R. Assessing the interactions between micropollutants and nanoparticles in engineered and natural aquatic environments // Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 2019. Vol. 50. P. 1–81.
5. Burke D.J., Zhu S., Publico-Lansigan M.P., Hewins C.R., Samia A.C.S. Titanium oxide nanoparticle effects on composition of soil microbial communities and plant performance // Biol. Fertil. Soils. 2014. Vol. 50. P. 1169–1173.
6. Demir E., Burgucu D., Turna F., Aksakal S., Kaya B. Determination of TiO₂, ZrO₂, and Al₂O₃ Nanoparticles on Genotoxic Responses in Human Peripheral Blood Lymphocytes and Cultured Embryonic Kidney Cells // Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues. 2013. Vol. 76(16). P. 990–1002.
7. Handy R.D., von der Kammer F., Lead J.R., Hassellöv M., Owen R., Crane M. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles // Ecotoxicology. 2008. Vol. 17. P. 287–314.
8. Li H., Li Y., Jiao J., Hu H. Alpha-alumina nanoparticles induce efficient autophagy-dependent cross-presentation and potent antitumour response // Nature nanotechnology. 2011. № 6. P. 645–650.
9. Mayordomo N., Alonso U., Missana T., Benedicto A., Garcia-Gutiérrez M. Addition of Al₂O₃ nanoparticles to bentonite: Effects on surface charge and Cd sorption properties // MRS Online Proceedings Library. 2014. № 1665. P. 131–137.
10. Md Jani A.M., Losic D., Voelcker N.H. Nanoporous anodic aluminium oxide: Advances in surface engineering and emerging applications // Progress in Materials Science. 2013. Vol. 58(5). P. 636–704.
11. Moshafi M., Ranjbar M., Ilbeigi G. Eco-Friendly and Systematic Study for Synthesis of La³⁺/α-Al₂O₃ Nanoparticles: Antibacterial Activity Against Pathogenic Microbial Strains // International Journal of Nanomedicine. 2019. Vol. 14. P. 10137–10146.
12. Mukherjee A., Peralta-Videa J.R., Bandyopadhyay S., Rico C.M., Zhao L., Gardea-Torresdey J.L. Physiological effects of nanoparticulate ZnO in green peas (*Pisum sativum* L.) cultivated in soil // Metallomics. 2014. Vol. 6. P. 132–138.
13. Nowack B., Bucheli T.D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment // Environ. Pollut. 2007. № 150. P. 5–22.
14. Ozturk B.Y., Daglioglu Y., Aşikkutlu B., Akköz C. Changes in pigment content of green algae (*Desmodesmus sp.* and *Chodatodesmus mucranulatus*) exposed to alumina oxide (Al₂O₃) nanoparticles // Biological Diversity and Conservation. 2018. Vol. 11(3). P. 64–70.
15. Owji H., Hemmati S., Heidari R., Hakimzadeh M. Effect of alumina (Al₂O₃) nanoparticles and macroparticles on *Trigonella foenum-graceum* L. in vitro cultures: assessment of growth parameters and oxidative stress-related responses // 3 Biotech. 2019. Vol. 9. P. 419.

16. Peralta-Videa J.R., Zhao L., Lopez-Moreno M.L., de la Rosa G., Hong J., Gardea-Torresdey J.L. Nanomaterials and the environment: A review for the biennium 2008–2010 // *J. Hazard. Mater.* 2011. Vol. 186. P. 1–15.
17. Qu X., Alvarez P.J.J., Li Q. Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment // *Water Research.* 2013. Vol. 47(12). P. 3931–3946.
18. Rico C.M., Majumdar S., Duarte-Gardea M., Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J.L. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain // *J. Agric. Food Chem.* 2011. Vol. 59. P. 3485–3498.
19. Rico C.M., Morales M.I., McCreary R., Castillo-Michel H., Barrios A.C., Hong J., Tafuya A., Lee W.-Y., Varela-Ramirez A., Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J.L. Cerium oxide nanoparticles modify the antioxidative stress enzyme activities and macromolecule composition in rice seedlings // *Environ. Sci. Technol.* 2013. Vol. 47. P. 14110–14118.
20. Roco M.C. Broader societal issues of nanotechnology // *J. Nanopart. Res.* 2003. № 5. P. 181–189.
21. Safarabadi M., Mehri khansari N., Rezaei A. An experimental investigation of HA/AL₂O₃ nanoparticles on mechanical properties of restoration materials // *Engineering Solid Mechanics.* 2014. № 2. P. 173–182.
22. Servin, A.D., Morales M.I., Castillo-Michel H., Hernandez-Viezcas J.A., Munoz B., Zhao L., Nunez J.E., Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J.L. Synchrotron verification of TiO₂ accumulation in cucumber fruit: A possible pathway of TiO₂ nanoparticle transfer from soil into the food chain // *Environ. Sci. Technol.* 2013. Vol. 47. P. 11592–11598.
23. Wang Z., Xie X., Zhao J., Liu X., Feng W., White J.C., Xing B. Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.) // *Environ. Sci. Technol.* 2012. Vol. 46. P. 4434–4441.
24. Yang Z., Jing C., Dou R., Gao X., Mao C., Wang L. Assessment of the Phytotoxicity of Metal Oxide Nanoparticles on Two Crop Plants, Maize (*Zea mays* L.) and Rice (*Oryza sativa* L.) // *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 2015. Vol. 12. P. 15100–15109.

EGOR MATLAHOV, ALINA SHATOVA
Moscow State University of Food Production

NANOPARTICLES IMPACT ON THE ACTIVITY OF DIASTASE OF DIFFERENT ORIGIN

The article deals with the general evaluation of nanotechnologies at the modern stage. There are given the data of the potential risk of the presence of the nanoparticles in the environment and the technology landscapes. There is considered the impact of the nanoparticles of the tioxide and multi-wall carbon nanotubes on the activity of the diastase of the natural and microbial origin. The author emphasizes the reasonability of the study of the impact of the nanoparticles of the aluminium oxide on amylolytic ability of the ferments and the results of the malting processes on the basis of the fermentation catalysis.

Key words: *nanotechnologies, nanoparticles, impact on biological objects, amylolytic ability, activity of diastase.*