

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, МЕХАНИКИ И
ОПТИКИ.

ФАКУЛЬТЕТ ПИЩЕВЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ И ИНЖЕНЕРИИ
КАФЕДРА ПРИКЛАДНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Иммобилизованные ферменты, способы иммобилизации

Выполнил студент группы Т4130

Гарбуз Семён

Санкт-Петербург, 2017 г.

Иммобилизованные ферменты

- 1. Такие ферменты представляют собой гетерогенные катализаторы, легко отделяющиеся от реакционной среды;
- 2. Могут использоваться многократно;
- 3. Обеспечивают непрерывность каталитического процесса.



Носители: типы и требования

Органические:

1) природные:

- А) Белковые;
- Б) Полисахаридные;
- В) Липидные

2) синтетические:

- А) полиметиленовые;
- Б) полиамидные;
- В) полиэфирные

- 1. Нерастворимы;
- 2. Высокая химическая и биологическая стойкость;
- 3. Значительная гидрофильность;
- 4. Достаточная проницаемость как для ферментов, так и для субстратов и продуктов реакции;
- 5. Способность носителя легко активироваться.

Неорганические:

материалы
изготовленные из
стекла,
глины,
керамики,
графитовой сажи

Методы иммобилизации ферментов

Физические

Химические

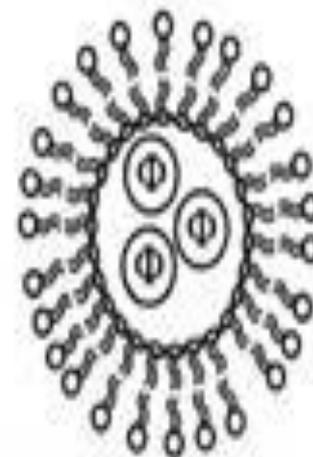
Адсорбция

Включение
в гель

Инкапсули-
рование

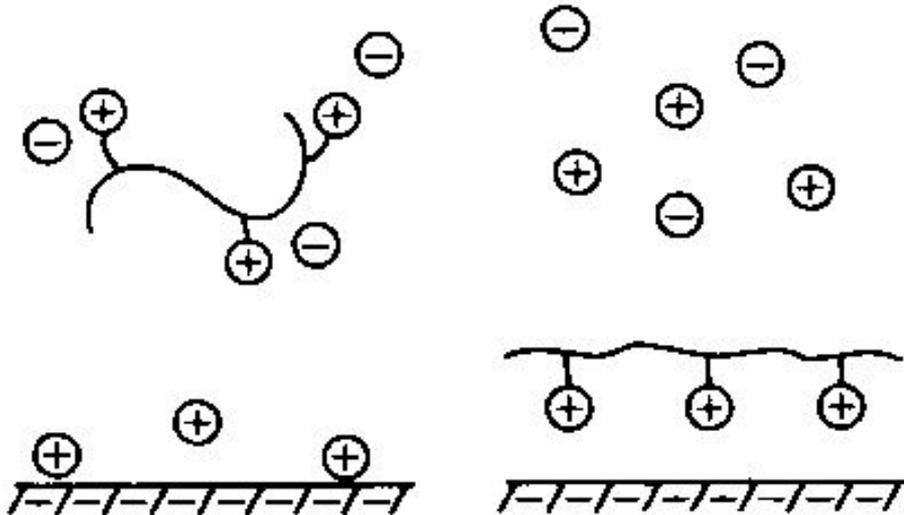
Включение
в липосомы

Ковалентное
связывание



Адсорбция ферментов на нерастворимых носителях

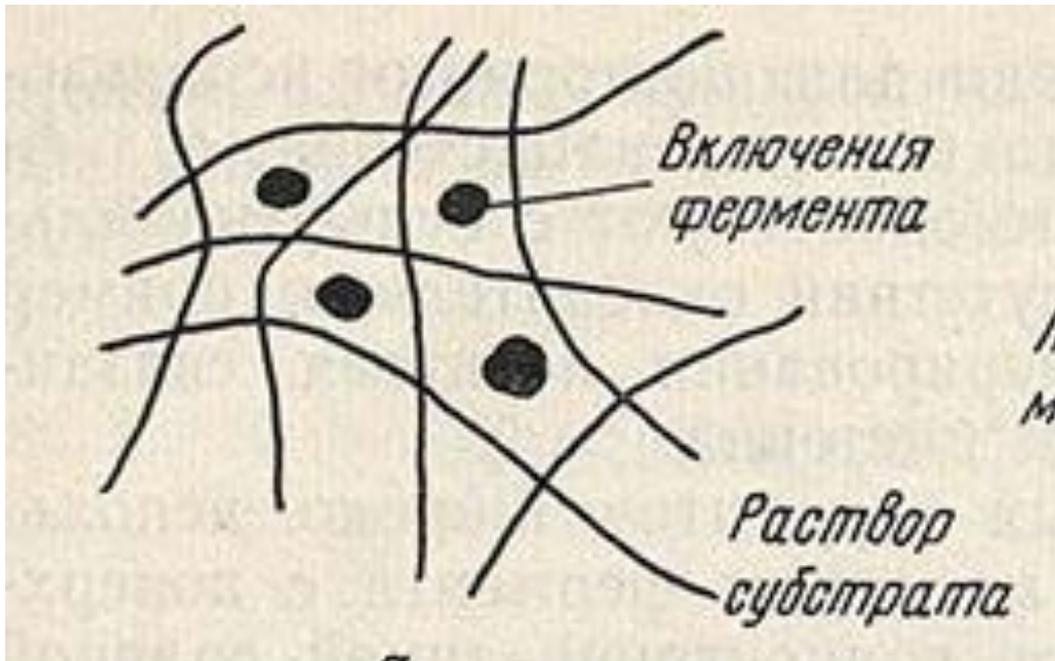
a



Активность фермента при таких условиях иммобилизации сохраняется практически на 100%, а удельная концентрация белка достигает 64 мг на 1 г носителя. К недостаткам адсорбционного метода следует отнести невысокую прочность связывания фермента с носителем. При изменении условий иммобилизации может произойти десорбция фермента, его потеря и загрязнение продуктов.

Существенно *повысить* прочность связывания фермента с носителем может предварительная его модификация (обработка ионами металлов, полимерами, белками, гидрофобными соединениями, монослоем липида).

Иммобилизация ферментов путём включения в гель



Два способа:

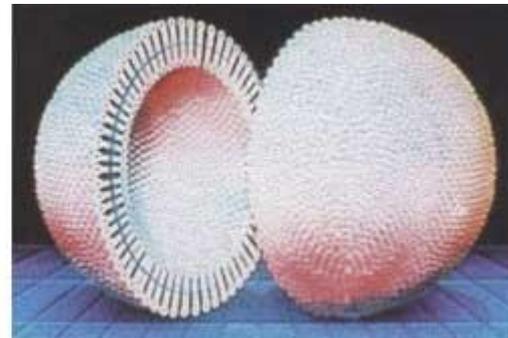
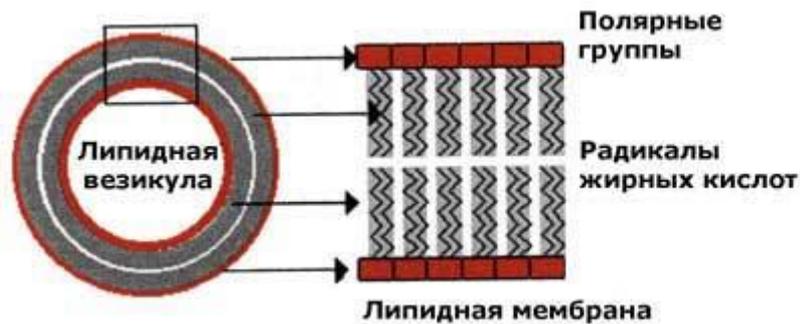
1. Фермент вводят в водный раствор мономера, а затем проводят полимеризацию, в результате которой возникает пространственная структура полимерного геля с включёнными в его ячейки молекулами фермента.
2. Фермент вносят в раствор уже готового полимера, который впоследствии переводят в гелеобразное состояние.

Инкапсулирование



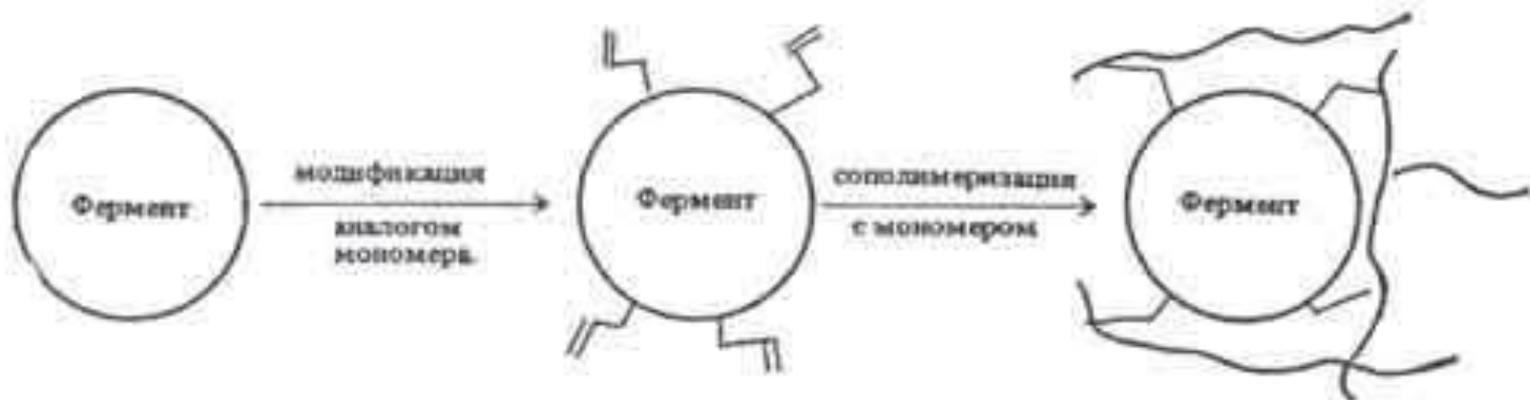
Достоинство метода микрокапсулирования – простота, универсальность, возможность многократного использования нативного фермента, поскольку он может быть отделён от непрореагировавшего субстрата процедурой простого фильтрования. Особенно существенно, что методом микрокапсулирования могут быть иммобилизованы не только индивидуальные ферменты, но и целые клетки и отдельные фрагменты клеток. К *недостаткам метода* следует отнести невозможность инкапсулированных ферментов осуществлять превращения высокомолекулярных субстратов.

Метод включения водных растворов ферментов в липосомы



Применяется в основном в медицине для адресной доставки ферментов

Химические методы иммобилизации ферментов



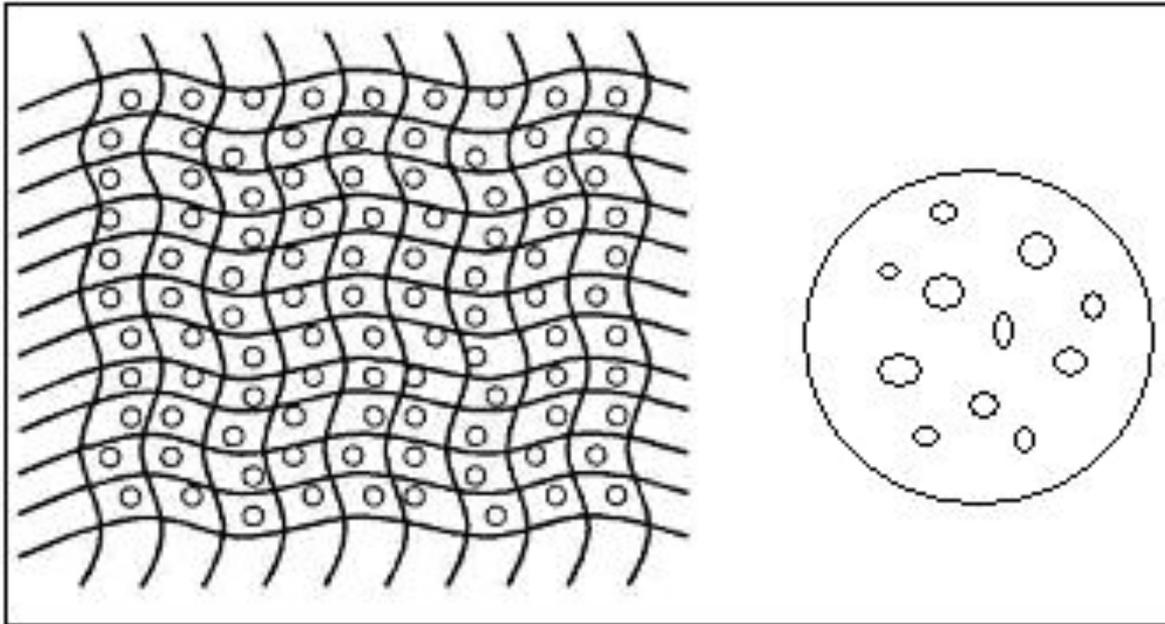
Принципиально важно, чтобы в иммобилизации фермента участвовали функциональные группы, не существенные для его каталитической функции

Проблемы и решения

1. Как все белки, ферменты могут быть «съедены» микроорганизмами, присутствующими в окружающей среде.
2. Может происходить межмолекулярная агрегация белковых молекул или их гидролиз под собственным воздействием ферментов.
3. Молекула фермента может потерять свою трёхмерную структуру (конформацию) в результате нарушения взаимодействий белковых групп полипептидной цепи под действием теплоты, повышения кислотности среды, органических растворителей. Это приводит к разрушению активного центра фермента и потере его активности.
4. Инактивация может происходить за счёт химической модификации функциональных групп, например вследствие окисления или реакций с

1. Иммобилизации ферментов в пористых носителях, размеры пор которых таковы, что фермент как бы экранирован от действия микробов.
2. Проведение процесса в условиях пастеризации, при температуре 70°C, поскольку в настоящее время разработаны приёмы стабилизации ферментов в условиях повышенных температур, препятствующие воздействию на белковые глобулы.
3. Фермент включают в небольшие для него «тесные» поры носителя. Тогда поры полностью препятствуют межмолекулярным процессам инактивации и разрушению активного центра фермента.

Иммобилизация клеток



1. Процесс обходится значительно дешевле;
 2. Ферменты в клетках намного стабильнее, чем в выделенном состоянии.
- К недостаткам* применения клеток относится очень низкая проницаемость клеточных оболочек для субстратов.