



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение
высшего образования

**«Пермский национальный исследовательский
политехнический университет»**

Факультет химической технологии,
промышленной экологии и биотехнологии

Кафедра «Химия и биотехнология»

Направление: 19.03.01 – Биотехнология

Иммобилизованный биокатализатор на основе адгезированных амидазосодержащих клеток родококков для синтеза акриловой кислоты

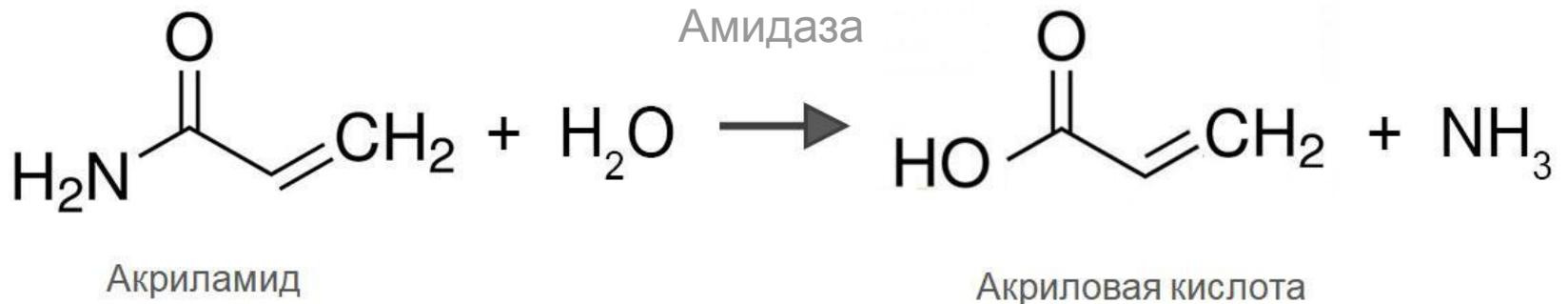
Выполнил: студент гр. БТ-15-16 Якимова М.С.

Руководитель: к.б.н., Максимов А.Ю.

Консультант: д.б.н. Максимова Ю.Г.



Биотрансформация акриламида в акриловую кислоту





Биокатализ

- ускорение с помощью ферментов химических реакций, протекающих в живых организмах;
- высокоэффективен;
- происходит в более «мягких» условиях.



Иммобилизация клеток

- отсутствие затрат на выделение и очистку ферментов;
- более высокая активность и стабильность биокатализатора;
- возможность создания непрерывных и полунепрерывных автоматизированных процессов;
- снижение количества отходов.



Цель работы

Изучение процесса адгезии клеток родококков на углеродных носителях, оценка воздействия физико-химических условий и иммобилизации клеток на их амидазную активность



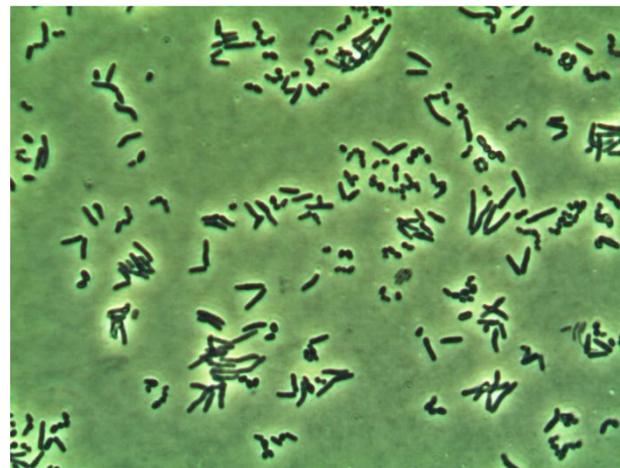
Задачи

1. Изучить зависимость адсорбции *R. erythropolis* 4-1 на углеродных носителях от концентрации клеток в суспензии;
2. Изучить влияние концентрации субстрата, температуры, pH реакционной среды на амидазную активность суспендированных клеток бактериального штамма *Rhodococcus erythropolis* 4-1;
3. Определить влияние условий хранения клеток *R. erythropolis* 4-1 на их амидазную активность;
4. Изучить влияние концентрации субстрата, температуры, pH реакционной среды на амидазную активность клеток *R. erythropolis* 4-1, иммобилизованных на углеродных носителях.



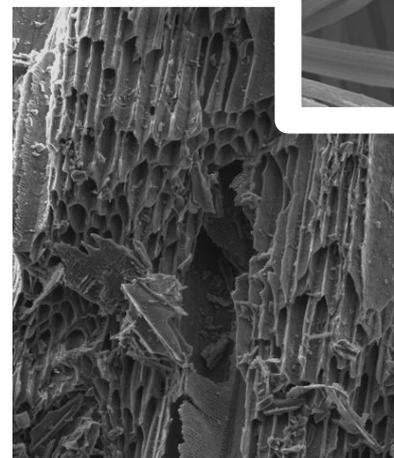
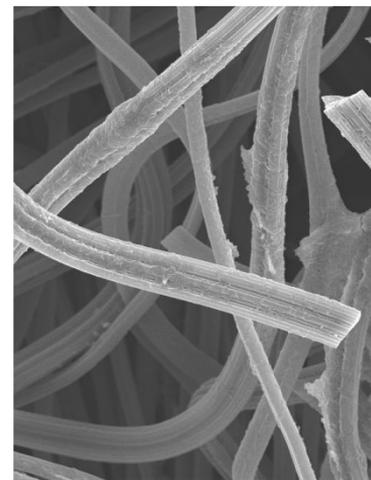
Исследуемый бактериальный штамм

Rhodococcus erythropolis 4-1, обладающий амидазной активностью.



Носители – углеродные материалы

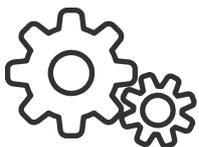
- уголь-сырец, измельченный до порошкообразного состояния;
- уголь активный дробленый Norit РК 1–3 (Голландия);
- активированные вискозные углеродные волокна Карбопон.





Проведение исследования





Определение количества адгезированных клеток

$$A = m * V * (ОДисх - ОДфильтр) / ОДисх$$

где:

A – масса адгезированных клеток, мг;

m – концентрация клеток в суспензии до иммобилизации (мг/мл);

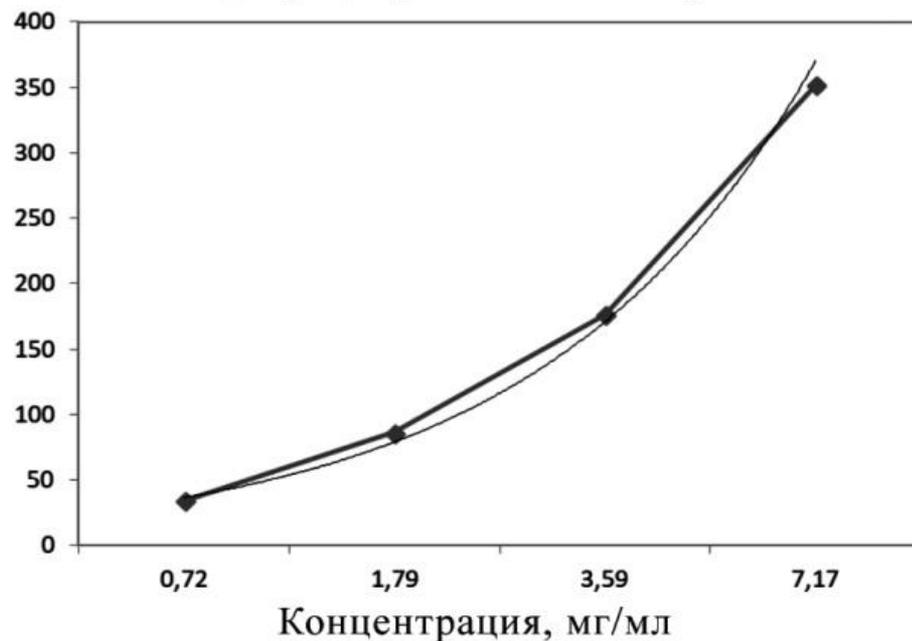
V – объем суспензии, из которого иммобилизовали клетки, мл;

ОДисх – оптическая плотность при 540 нм суспензии клеток до адгезии;

ОДфильтр – оптическая плотность при 540 нм суспензии клеток после адгезии.

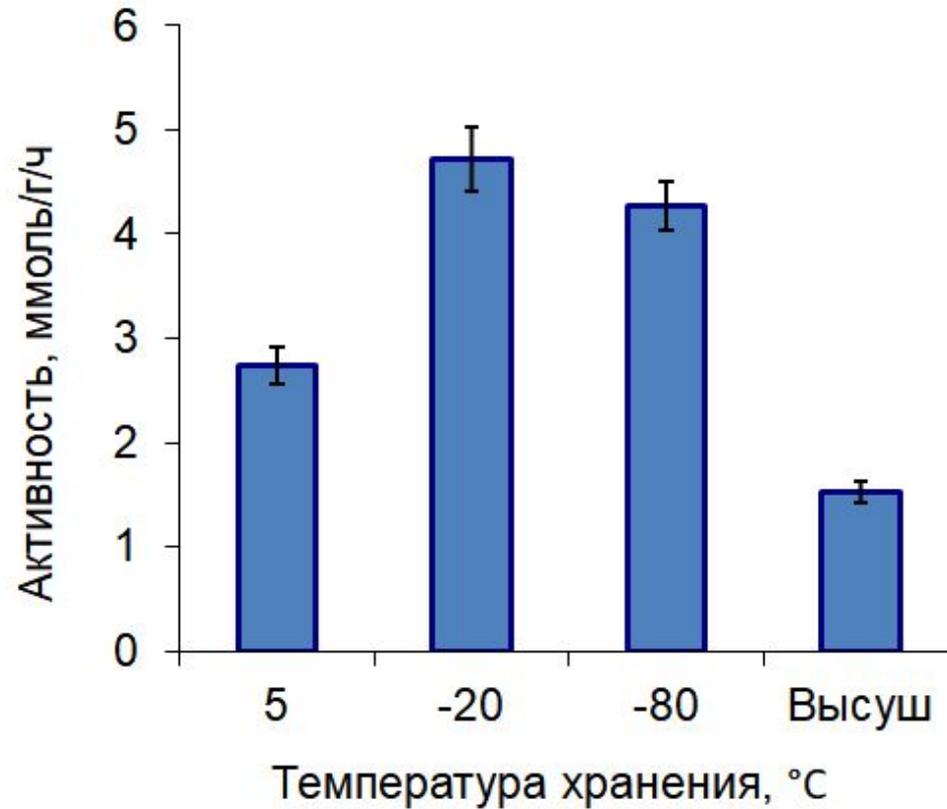
График зависимости массы адгезированных клеток на носителях от концентрации исходной суспензии

Величина адсорбции, мг клеток/г сорбента

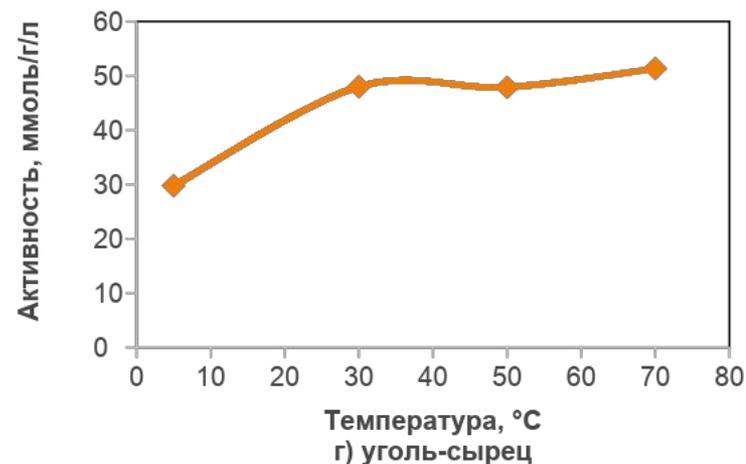
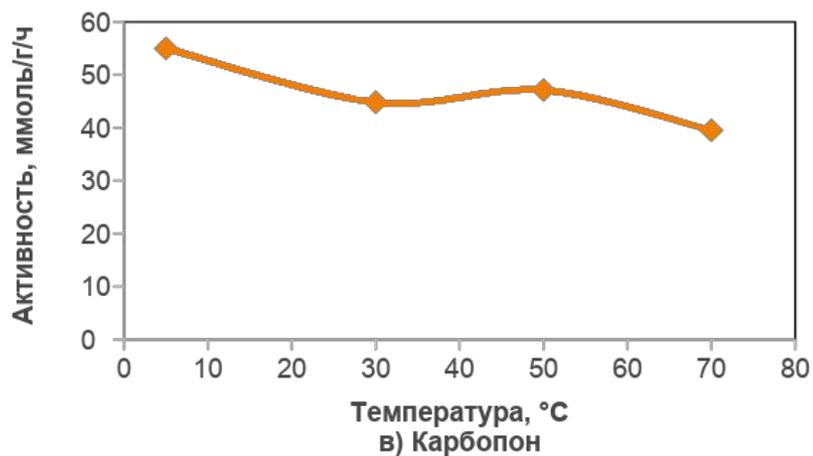
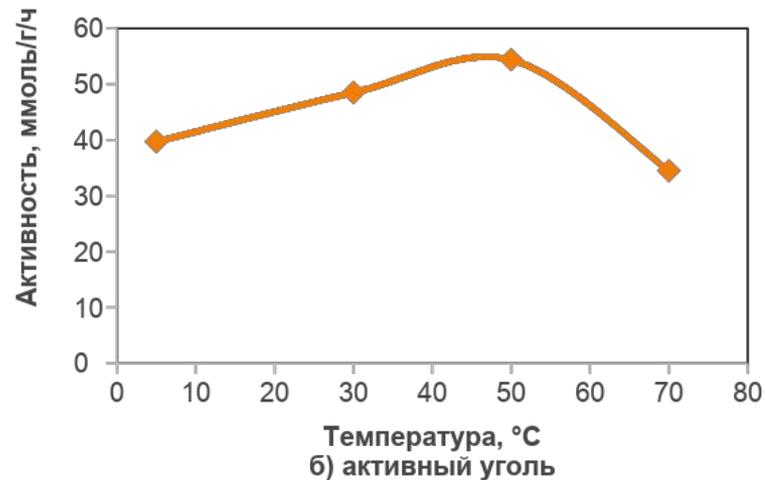
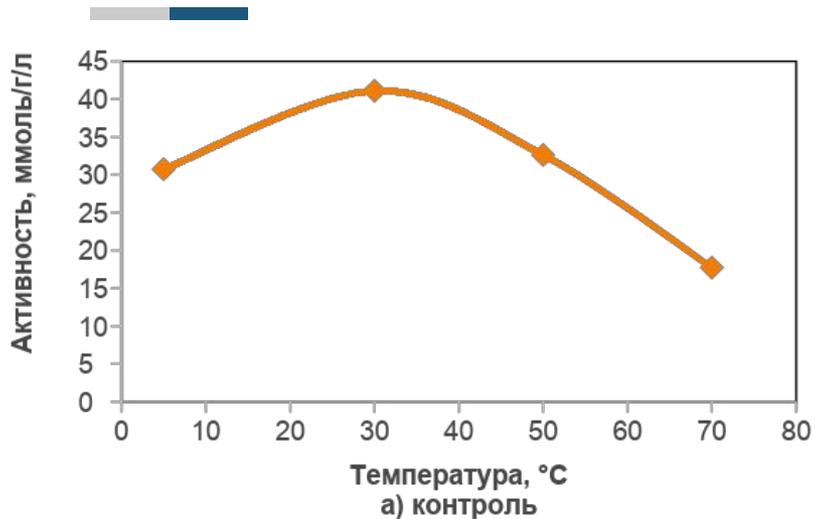


- уголь-сырец:
 $y = 15,657e^{0,803x}$;
- волокна Карбопон:
 $y = 16,923e^{0,7712x}$;
- уголь активный:
 $y = 19,977e^{0,788x}$;

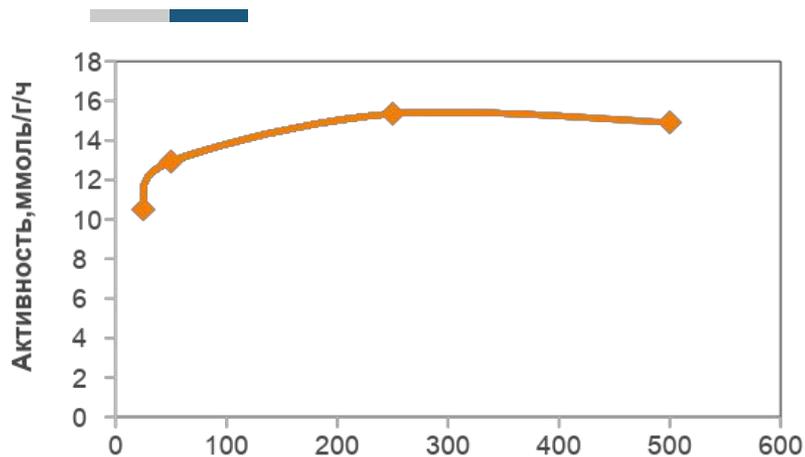
График зависимости активности свободных клеток от условий хранения культуры



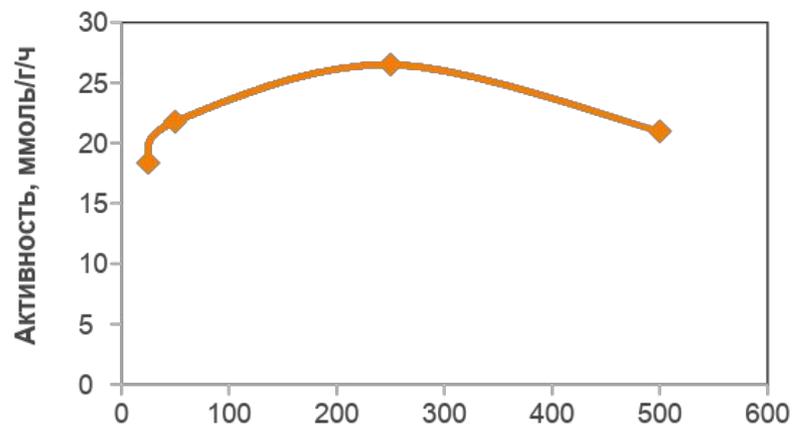
Графики зависимости активности свободных и иммобилизованных клеток от температуры проведения реакции



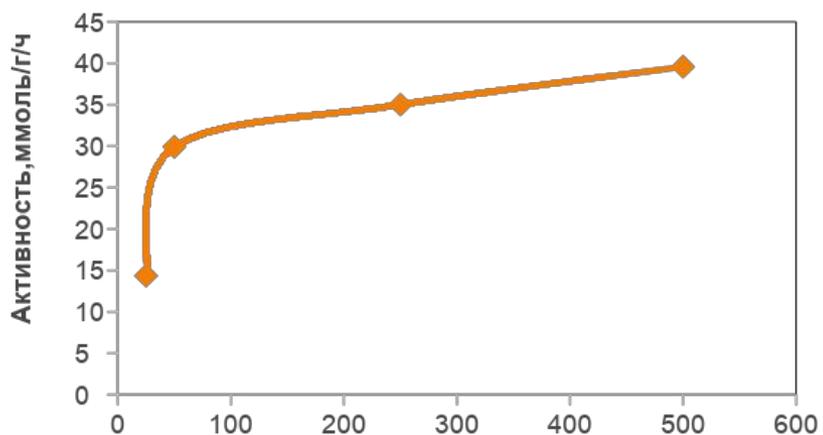
Графики зависимости активности свободных и иммобилизованных клеток от концентрации акриламида



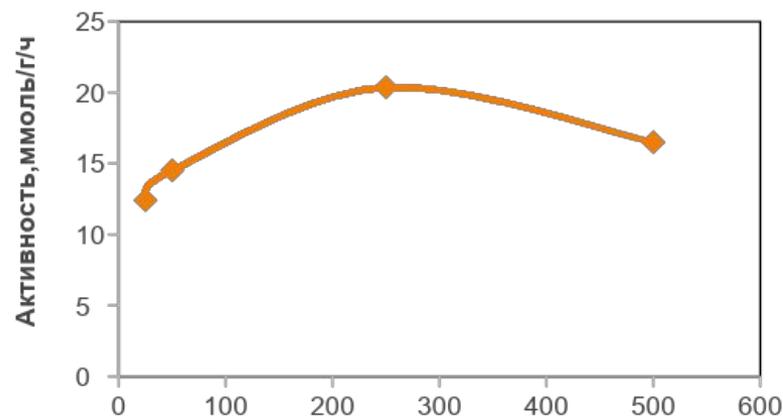
а) контроль



б) активный уголь

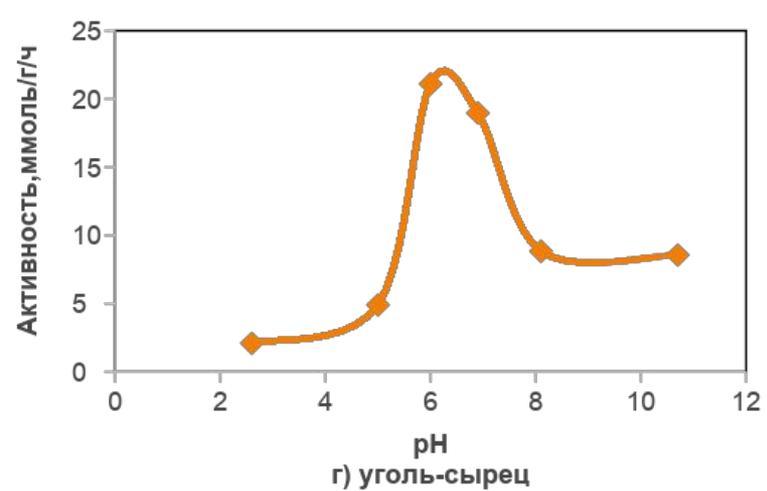
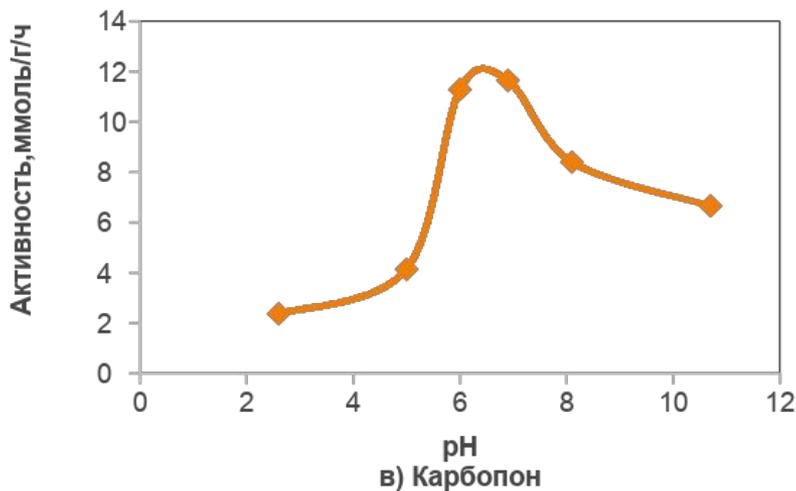
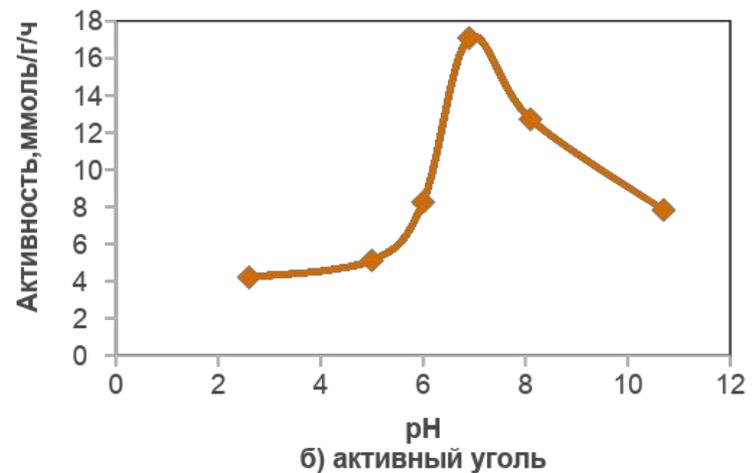
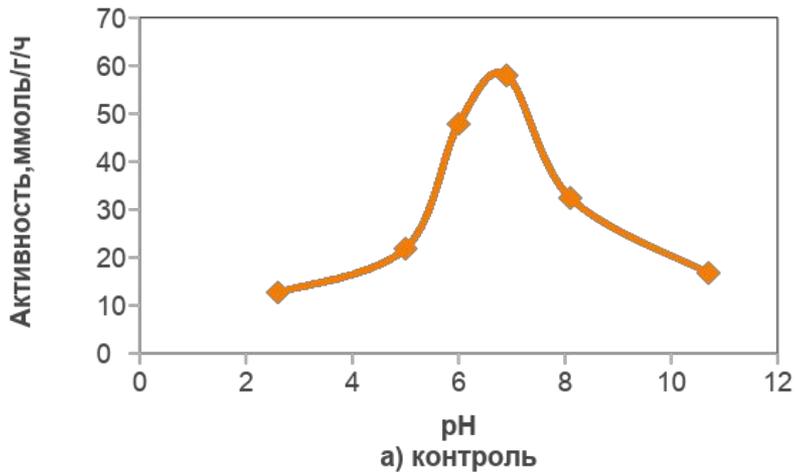


в) Карбопон



г) уголь-сырец

Графики зависимости активности свободных и иммобилизованных клеток от величины pH реакционной среды



Выводы

1. При изучении процесса адсорбции клеток *R. erythropolis* 4-1 на углеродных носителях было показано, что масса адсорбированных клеток увеличивается пропорционально концентрации суспензии, и в пределах изученных концентраций суспензии (0,72 - 8,90 мг/мл) насыщение сорбента клетками не наблюдается.
2. Определено, что амидазная активность свободных клеток *R. erythropolis* 4-1 максимальна при температуре 30°C, pH 6,5 и концентрации субстрата 150 мМ.
3. Показано, что оптимальными условиями хранения биокатализатора является замораживание при температурах -20 и -80°C, тогда как высушивание клеток *R. erythropolis* 4-1 приводит к снижению амидазной активности.
4. Показано, что углеродные носители выполняют защитную роль для иммобилизованных клеток. При воздействии температуры 70°C амидазная активность адсорбированных клеток *R. erythropolis* 4-1 в 2-3 раза превышала активность суспендированных клеток. При pH 10,7, у клеток, иммобилизованных на активном угле, сохранялось 46%, на карбопоне - 58%, на угле-сырце - 41% от максимальной амидазной активности, тогда как у свободных клеток - 29%.