

- Ферменты — белки, участвующие в процессах анаболизма (синтеза) и катаболизма (распада), т.е. в метаболизме. Ферменты распознают соответствующие им метаболиты (субстраты), вступают с ними во взаимодействие и ускоряют химические реакции.

Известно более 2000 ферментов. Они объединены в 6 классов:

- 1) **оксидоредуктазы** — окислительно-восстановительные ферменты (к ним относят дегидрогеназы, оксидазы и др.);
- 2) **трансферазы**, переносящие отдельные радикалы и атомы от одних соединений к другим;
- 3) **гидролазы**, ускоряющие реакции гидролиза, т.е. расщепление веществ на более простые с присоединением молекулы воды (эстеразы, фосфатазы, глюкозидазы и др.);
- 4) **лиазы**, отщепляющие от субстратов химические группы негидролитическим путем (карбоксилазы и др.);
- 5) **изомеразы**, превращающие органические соединения в их изомеры (фосфогексоизомераза и др.);
- 6) **лигазы**, или синтетазы, ускоряющие синтез сложных соединений из более простых (аспарагинсинтетаза, глутаминсинтетаза и др.).

Достоинства ферментов по сравнению с неорганическими катализаторами:

- - нетоксичность,
- - работают в мягких условиях, не требующих высоких температур и, следовательно, затрат топлива,
- - используют доступное сырьё (часто отходы), что выгодно с экономической и экологической точек зрения.
- Ферменты по объёму производства занимают 3 место после аминокислот и антибиотиков.

Получение ферментов

- *Традиционные источники ферментов* – это природные объекты, в которых содержание фермента составляет не менее 1%.
- Без применения биотехнологии для получения ферментов в больших количествах пригодны только некоторые растительные организмы на определенной фазе их развития: например, проросшее зерно различных злаков и бобовых, латекс и сок зеленой массы некоторых растений, а также ткани и органы животных.
- Практически неограниченный источник ферментов – это **микроорганизмы и грибки**. За счёт размножения они самостоятельно наращивают объёмы производства ферментов.
- В настоящее время наиболее прогрессивным является метод культивирования микроорганизмов при непрерывной подаче в ферментер как питательной среды, так и посевного (микробного) материала.

Иммобилизованные ферменты

- *Иммобилизованные ферменты* (от лат. *immobilis* — неподвижный) - это препараты ферментов, молекулы которых связаны с матрицей, или носителем (как правило, полимером), и сохраняют при этом полностью или частично свои каталитические свойства. Иммобилизованные ферменты обычно не растворимы в воде; между двумя фазами возможен обмен молекулами субстрата, продуктов каталитической реакции, ингибиторов и активаторов.

Способы иммобилизации ферментов:

- 1) путем образования ковалентных связей между ферментом и матрицей;
- 2) полимеризацией мономера, образующего матрицу, в присутствии фермента, который при этом оказывается включенным в сетку полимера - обычно геля;
- 3) благодаря электростатическому взаимодействию противоположно заряженных групп фермента и матрицы;
- 4) сополимеризацией фермента и мономера, образующего матрицу;
- 5) связыванием фермента и матрицы в результате невалентных взаимодействий - гидрофобных, с образованием водородных связей и др.;
- 6) инкапсулированием - созданием около молекул фермента полупроницаемой капсулы, например, включением фермента в липосомы;
- 7) сшиванием молекул фермента между собой, например, глутаровым альдегидом, диметиловым эфиром диимида адипиновой кислоты.

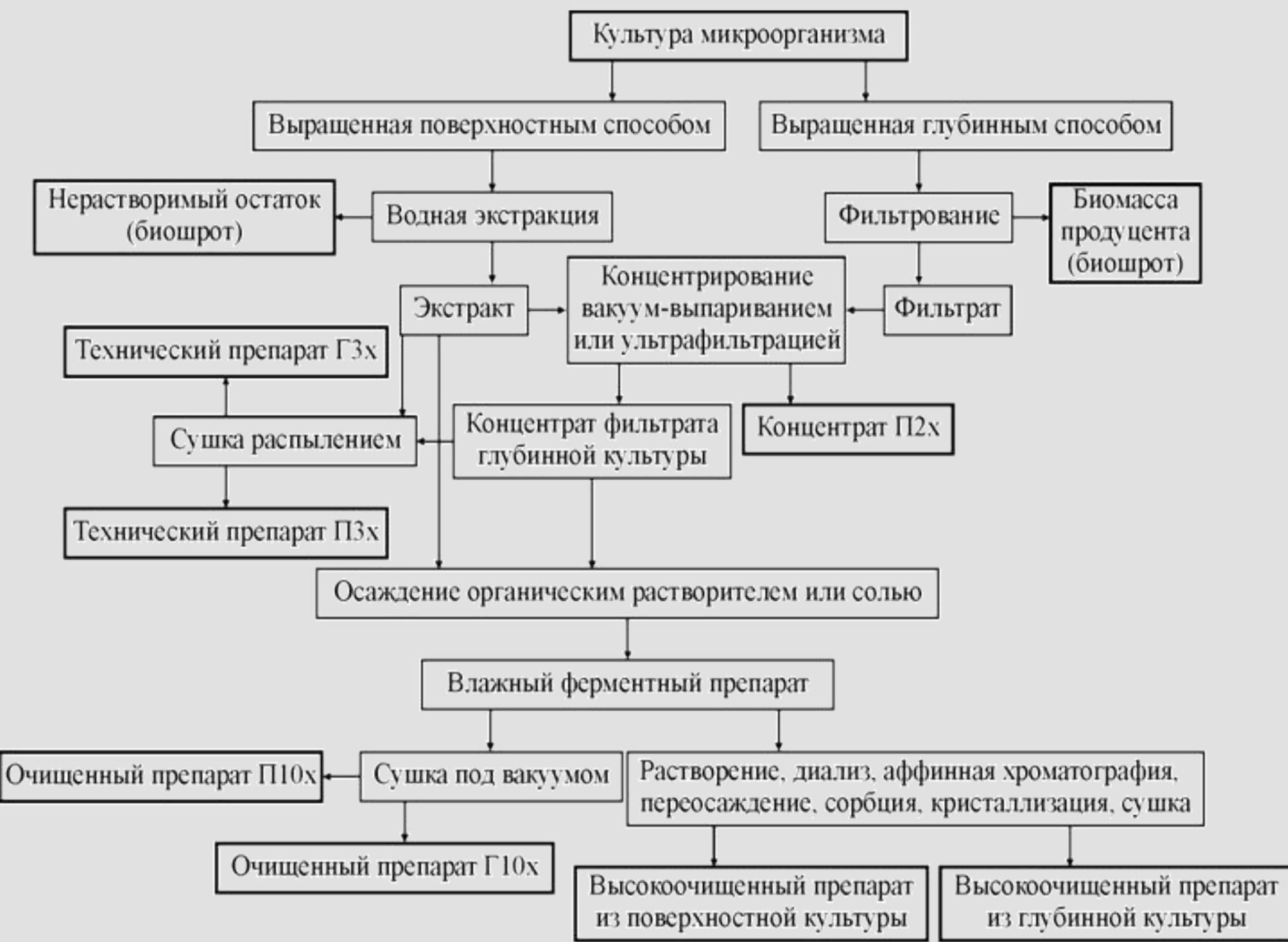
Основные стадии получения ферментов

• Процесс получения микробных ферментных препаратов можно разбить на три стадии:

- получение посевного материала;
- получение производственной культуры микроорганизма;
- получение из производственной культуры продуцента технических или очищенных ферментных препаратов.

- **Подготовка посевного материала для поверхностного культивирования.**
- Поверхностный способ культивирования применяют в основном для культивирования микроскопических грибов. Посевной материал в этом случае может быть приготовлен в виде культуры, выращенной на твердой питательной среде или в виде мицелиальной массы продуцента, выращенной в жидкой среде глубинным способом.
 - *Независимо от вида посевного материала последовательность операций одинаковая:*
- приготовление питательной среды;
- стерилизация питательной среды и аппаратуры;
- охлаждение среды до температуры роста культуры;
- засев среды исходным штаммом продуцента;
- выращивание культуры продуцента до определенного возраста;
- консервирование посевного материала.

- **Подготовка посевного материала для глубинного культивирования.**
- Посевной материал в этом случае готовят глубинным способом.
 - Вид посевного материала зависит от продуцента: для грибов и актиномицетов — это мицелиальная масса, а для бактерий — молодая спороносящая культура.
 - Этапы получения посевной культуры:
 - обновление исходной культуры на агаризированной среде;
 - выращивание культуры на жидкой среде в колбах на качалке;
- культивирование продуцента в малом, а затем, если требуется, в большом инокуляторе.



- Для получения внутриклеточных ферментов необходимой является стадия **экстракции**, под которой понимается процесс высвобождения ферментов из микробных клеток или их составных элементов. Экстракции обычно должно предшествовать *механическое, физическое или химическое* разрушение клеточной оболочки.
- Получающиеся после разрушения микробных клеток остатки клеточной оболочки обычно подлежат удалению из смеси. Для этого используют **флокуляцию и коагуляцию** клеточных остатков или отделение их *центрифугированием*. В качестве растворителей обычно используют воду или водно-солевые растворы.

- Для очистки ферментов широко используются методы **ультрафильтрации**, а также *хроматографии*, в качестве сорбентов использующие часто иониты.
- Методы иммобилизации ферментов можно разделить на две группы: включение в гель микрокапсулы и связывание с носителем адсорбционно или ковалентной связью.
- *Преимуществами иммобилизованных ферментов* являются возможность многократного их использования и повышение их стабильности, поскольку закрепление каталитически активной конформации препятствует денатурации.