

Μάθημα Βιοχημικές Διεργασίες (ΕΝΕ.2070)

Ένζυμα και Κινητική Ενζυμικών Αντιδράσεων (Μέρος Β)

Δρ. ΑΝΕΣΤΗΣ ΒΛΥΣΙΔΗΣ

Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος

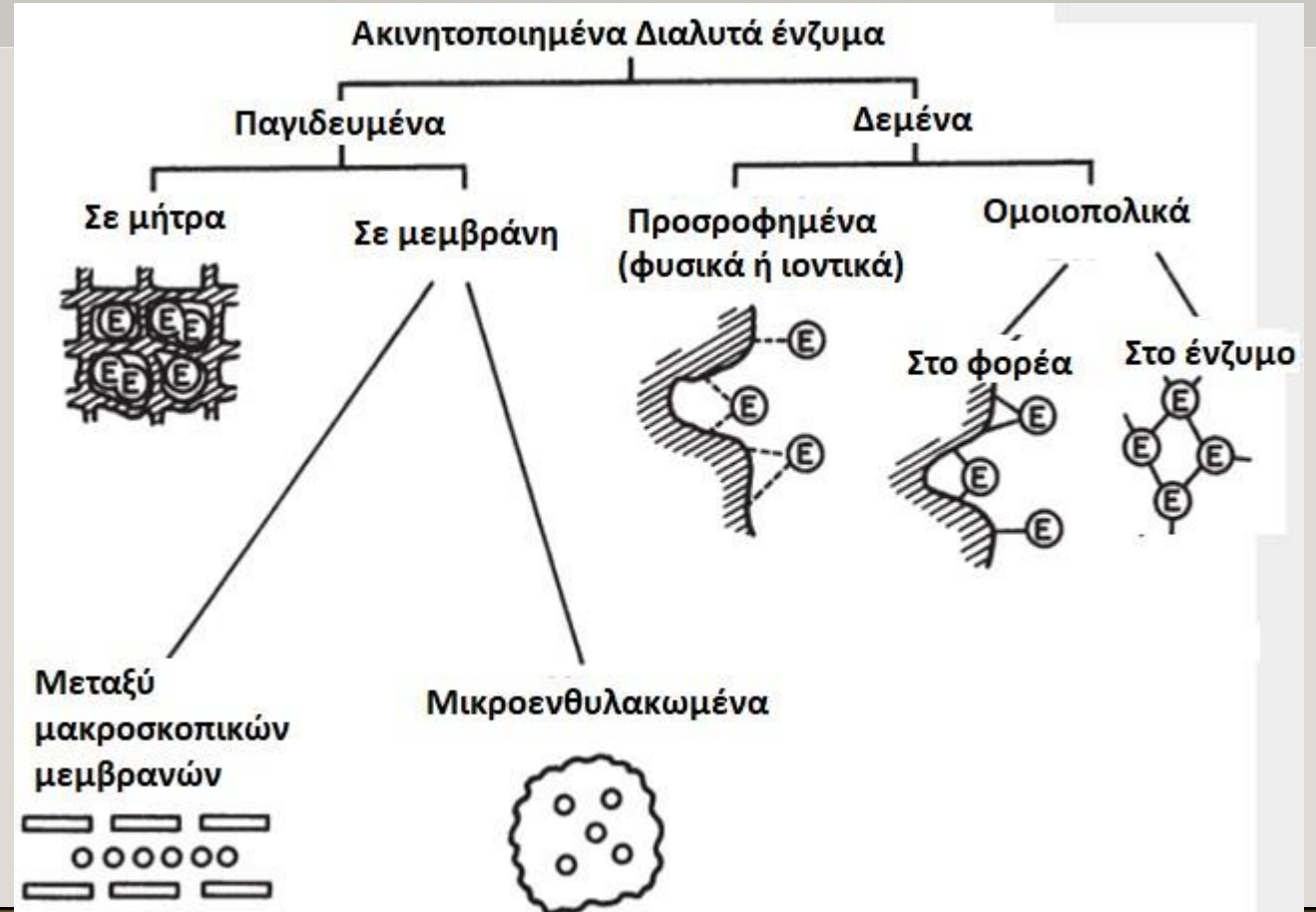
Πανεπιστήμιο Πατρών

Ενζυμική Ακίνητοποίηση

- Ο περιορισμός της κινητικότητας ενός ενζύμου σε ένα συγκεκριμένο χώρο είναι γνωστός ως ενζυμική ακίνητοποίηση (enzyme immobilization).
- Πλεονεκτήματα κατά την ακίνητοποίηση
 - 1) Επαναχρησιμοποίηση του ενζύμου και εξάλειψη των διαδικασιών ανάκτησης και καθαρισμού
 - 2) Καλύτερο περιβάλλον δράσης του ενζύμου (σε ορισμένες περιπτώσεις)
 - 3) Βελτίωση στην καθαρότητα των προϊόντων και
 - 4) Ελαχιστοποίηση των προβλημάτων χειρισμού του υγρού εκροής

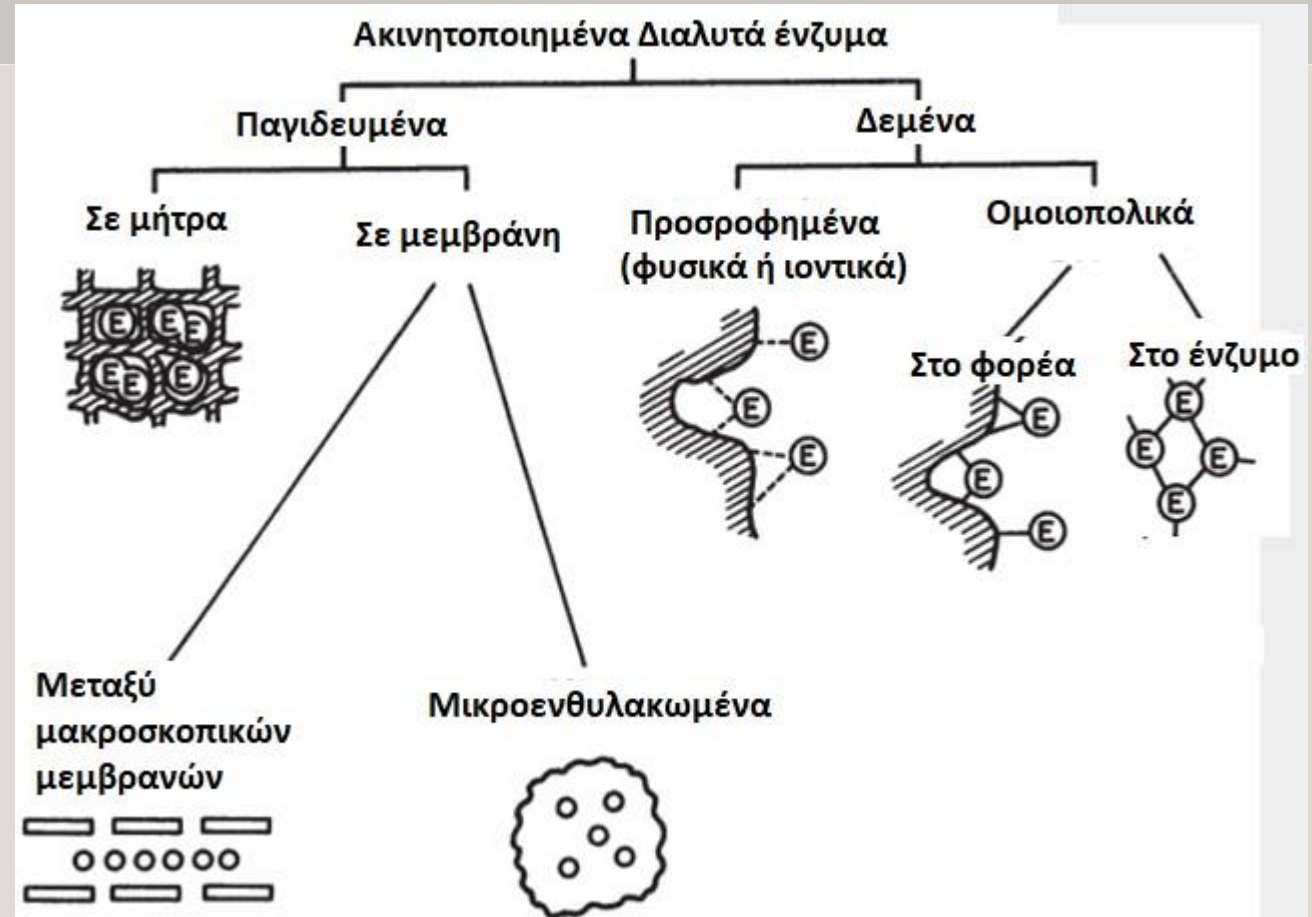
Μέθοδοι Ακίνητοποίησης Παγίδευση

- Η παγίδευση είναι ο φυσικός εγκλεισμός των ενζύμων σε μικρό χώρο
- Η παγίδευση σε μήτρα και η παγίδευση σε μεμβράνη είναι οι δύο βασικές μέθοδοι παγίδευσης.
- Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την παγίδευση είναι πολυμερή υλικά όπως το αλγινικό ασβέστιο, το άγαρ, το πολυακρυλαμίδιο και το κολλαγόνο.
- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν και στερεά υλικά όπως ενεργός άνθρακας.



Μέθοδοι Ακινητοποίησης Επιφανειακή ακινητοποίηση

- Οι δύο κυριότεροι τύποι ακινητοποίησης ενζύμων σε επιφάνειες υλικών στήριξης είναι η προσρόφηση και η ομοιοπολική σύνδεση.
- Η προσρόφηση είναι η πρόσδεση των ενζύμων σε επιφάνειες σωματιδίων στήριξης λόγω ασθενών φυσικών δυνάμεων (π.χ. δυνάμεις Van der Waals).
- Η ομοιοπολική πρόσδεση (covalent binding) είναι η συγκράτηση των ενζύμων στις επιφάνειες στήριξης με το σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών.
- Εδώ τα μόρια του ενζύμου συνδέονται με το υλικό στήριξης μέσω ορισμένων λειτουργικών ομάδων όπως αμινομάδες, καρβοξυλομάδες και υδροξυλομάδες.



Περιορισμοί διάχυσης στα ακινητοποιημένα ενζυμικά συστήματα

- Στα ακινητοποιημένα συστήματα παρατηρούνται διάφορα επίπεδα αντίστασης λόγω διάχυσης.
- Η επίπτωση της διάχυσης στο ρυθμό της ενζυμικής αντίδρασης εξαρτάται από τον παρακάτω λόγο:
- $Da = \frac{\text{μεγιστος ρυθμος αντιδρασης}}{\text{μεγιστος ρυθμος διαχυσης}} = \frac{V_m}{k_L[S_b]}$ (αριθμός Damkohler)
- Όπου $[S_b]$ η συγκέντρωση του υποστρώματος στο υγρό ζύμωσης (g/cm^3) και k_L είναι ο συντελεστής μεταφοράς μάζας (cm/s)

Περιορισμοί διάχυσης στα ακινητοποιημένα ενζυμικά συστήματα

$$Da = \frac{\text{μεγιστος ρυθμός αντιδρασης}}{\text{μεγιστος ρυθμός διαχυσης}} = \frac{V_m}{k_L[S_b]} \quad (\text{αριθμός Damkohler})$$

- Για $Da \gg 1$, ο ρυθμός της διάχυσης είναι περιοριστικός
- Για $Da \ll 1$, ο ρυθμός της αντίδρασης είναι περιοριστικός
- Για $Da \sim 1$, οι αντιστάσεις της διάχυσης και της αντίδρασης είναι συγκρίσιμες.
- Στα ένζυμα που είναι παγιδευμένα σε μήτρα, η διάχυση και η ενζυμική αντίδραση γίνονται συνήθως ταυτόχρονα.
- Στα ένζυμα που είναι προσροφημένα η διάχυση και η αντίδραση είναι δύο διαδοχικά φαινόμενα.

Παραγωγή ενζύμων σε μεγάλη κλίμακα

- Μεταξύ των διαφόρων ενζύμων που παράγονται σε μεγάλη κλίμακα είναι οι:
 - πρωτεάσες (σουλπιλίνη, πυτιά) οι οποίες υδρολύουν πρωτεΐνες σε μικρότερες πεπτιδικές μονάδες
 - υδρολάσες (πηκτινάση, λιπάση (υδρολύουν λιπίδια σε λιπαρά οξέα), λακτάση),
 - ισομεράσες (ισομεράση της γλυκόζης) και
 - οξειδάσες (οξειδάση της γλυκόζης).
- Αυτά τα ένζυμα παράγονται χρησιμοποιώντας στελέχη υπερπαραγωγής ορισμένων οργανισμών.
- Ο διαχωρισμός και ο καθαρισμός ενός ενζύμου από έναν οργανισμό απαιτεί:
 - διάσπαση των κυττάρων,
 - απομάκρυνση των κυτταρικών υπολειμμάτων και νουκλεϊκών οξέων,
 - καταβύθιση πρωτεϊνών,
 - υπερδιήθηση του επιθυμητού ενζύμου,
 - χρωματογραφικούς διαχωρισμούς (προαιρετικά),
 - κρυστάλλωση και ξήρανση.
- Η διεργασία διαχωρισμού και καθαρισμού διαφέρει ανάλογα με το εάν το ένζυμο είναι ενδοκυτταρικό ή εξωκυτταρικό.

Δομή Μαθήματος

Ισοζύγια μάζας
& Στοιχειομετρία

Κινητική Ενζυμικών
αντιδράσεων

Κινητική ανάπτυξης
μικροβίων & παραγωγή
Μεταβολικών προϊόντων

Εισαγωγικό
Μάθημα



Σχεδιασμός &
Μηχανική
Βιοαντιδραστήρων

Ανάντι και κατάντι
διεργασίες σε
συστήματα
βιοδιεργασιών

Κλιμάκωση βιοδιεργασιών,
μικτές καλλιέργειες,
αντιδραστήρες ετερογενούς
ανάπτυξης

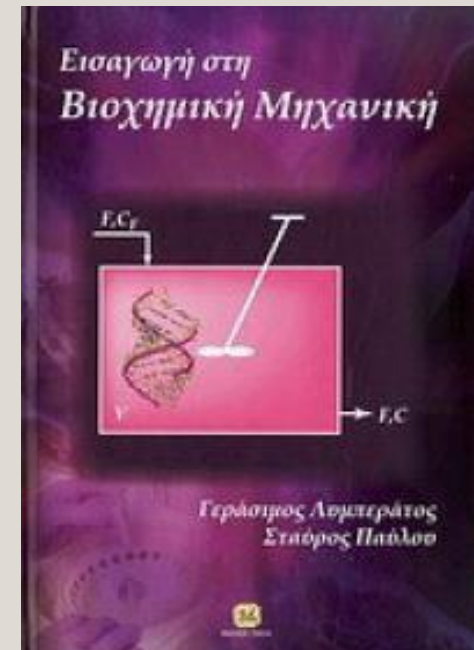
Φαινόμενα μεταφοράς
μάζας και ενέργειας σε
έναν αντιδραστήρα

Βιβλιογραφία



Michael L. Shuler, Fikret Kargi, ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΒΙΟΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ Βασικές Έννοιες, 2005, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις ΕΜΠ.

Λυμπεράτος Γ., Παύλου Στ., Εισαγωγή στη ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ, Εκδόσεις Τζιόλα, 2011



Επιπλέον Βιβλιογραφία

- Ιωάννης Κλώνης (2017). Ενζυμική Βιοτεχνολογία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης

