Лекция. 5 Иммобилизация ферментов и микробных клеток. Актуальность биообработки зерновых.

Кафедра биотехнологии, КазНУ имени аль-Фараби
проф. д.б.н. Кенжебаева С.С.

Цель и результаты обучения

Цель лекции. **Сформировать у магистрантов системное представление о принципах, методах и биотехнологическом значении иммобилизации ферментов и микробных клеток, а также о современных технологиях биообработки зерновых культур, направленных на повышение эффективности биокаталитических процессов, улучшение пищевой ценности и функционально-технологических свойств зерна, рациональное использование растительного сырья и разработку ресурсосберегающих технологий его переработки.**

Результаты обучения

- ❑ **объяснять принципы иммобилизации; сравнивать методы иммобилизации;**
- ❑ **выбирать носители для различных ферментов;**
- ❑ **оценивать эффективность иммобилизованных биокатализаторов;**
- ❑ **применять технологии при переработке зерновых культур.**
- ❑ **Обосновывать актуальность биообработки зерновых культур для повышения пищевой ценности, безопасности и технологических свойств зерна.**
- ❑ **Характеризовать состав и структуру зерна как объекта биотехнологической переработки.**
- ❑ **Классифицировать основные технологии биообработки зерна, включая ферментативную обработку, ферментацию, проращивание и использование микробных культур.**
- ❑ **Объяснять механизмы действия ферментов и микроорганизмов на крахмал, белки, клеточные стенки и антипитательные соединения зерна.**
- ❑ **Сравнивать преимущества и ограничения физических, химических и биологических методов обработки зернового сырья.**
- ❑ **Выбирать подходящий способ биообработки в зависимости от вида зернового сырья и требуемого конечного продукта.**
- ❑ **Оценивать влияние биообработки на усвояемость белка, доступность минеральных веществ, содержание биологически активных соединений и безопасность продукции.**
- ❑ **Анализировать перспективы применения современных биотехнологий для глубокой и безотходной переработки зернового сырья.**

Содержание лекции

1. Понятие иммобилизации.
2. Преимущества и ограничения.
3. Методы иммобилизации.
4. Носители для ферментов и клеток.
5. Иммобилизованные ферменты.
6. Иммобилизованные микроорганизмы.
7. Биореакторы.
8. Применение в биообработке растительного сырья.
9. Современные технологии.
10. Зерновые культуры как объект биообработки.
11. Актуальность биотехнологической переработки зерна.
12. Ферментативная обработка.
13. Методы биообогащения зерновых культур (Микробная ферментация,
14. проращивание и соложение).

Понятие иммобилизации.

Иммобилизация ферментов — это закрепление молекул фермента на нерастворимом носителе или внутри матрицы с сохранением каталитической активности.

Иммобилизация клеток — ограничение подвижности живых клеток при сохранении их жизнеспособности и метаболической активности.

Преимущества иммобилизации

многократное использование

✓ высокая стабильность

✓ устойчивость к pH

✓ устойчивость к температуре

✓ простое отделение продукта

✓ непрерывные процессы

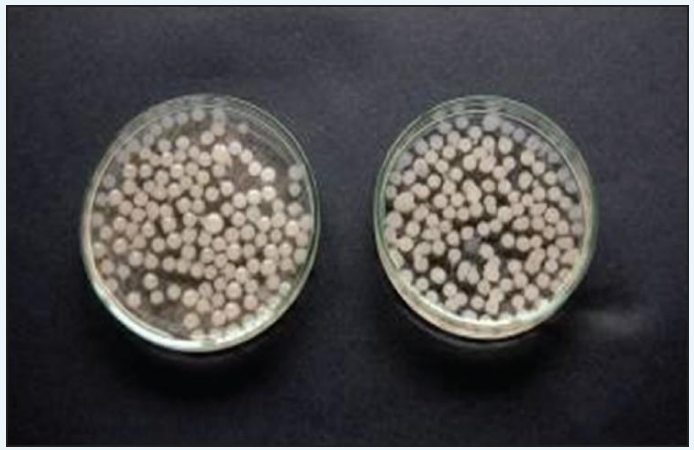
Методы иммобилизации.

Классификация методов

- адсорбция;
- ковалентное связывание;
- включение в гель;
- инкапсуляция;
- сшивание (cross-linking).

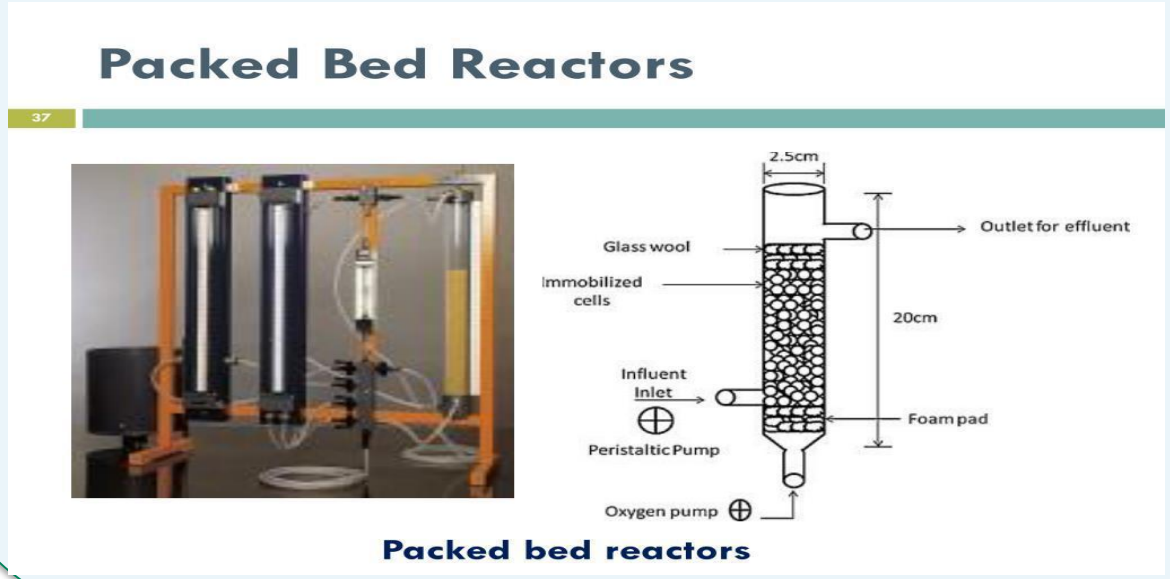
Метод	Преимущества	Недостатки	Применение
Адсорбция	Простота	Возможна десорбция	Пищевые ферменты
Ковалентное связывание	Очень высокая стабильность	Высокая стоимость	Промышленная биокатализа
Инкапсуляция	Защита клеток	Диффузионные ограничения	Ферментация
Включение в гель	Высокая жизнеспособность	Хрупкость матрицы	Lactobacillus
CLEAs	Без носителя	Сложная оптимизация	Биокатализ

Методы иммобилизации.



Альгинатные капсулы (Ca-alginate beads)





Реактор с неподвижным слоем
Packed-bed reactor

Реактор с псевдоожиженным слоем
Fluidized-bed reactor

Основные носители для иммобилизации ферментов и микробных клеток

1. Природные полимерные носители

•Альгинат, хитозан, агароза, целлюлоза и крахмал.

•Отличаются биосовместимостью, доступностью и относительно мягкими условиями иммобилизации.

Применяются для включения микробных клеток и ферментов в гелевые матрицы или закрепления на поверхности носителя.

2. Синтетические полимерные носители

•Полиакриламид, поливиниловый спирт (ПВС), функционализированные полимерные смолы.

•Обладают регулируемой пористостью, механической прочностью и химической устойчивостью.

Используются для создания стабильных биокаталитических систем многократного применения.

3. Неорганические носители

•Силикагель, пористое стекло, керамика, оксиды металлов.

•Характеризуются высокой механической прочностью, термической стабильностью и развитой поверхностью.

Применяются для адсорбционной и ковалентной иммобилизации ферментов.

Основные носители для иммобилизации ферментов и микробных клеток

14. Композитные и наноструктурированные носители

•Магнитные наночастицы, полимерно-неорганические композиты, функционализированные наноматериалы.

•Обеспечивают высокую удельную поверхность и возможность направленной модификации свойств носителя.

•Магнитные системы облегчают отделение и повторное использование иммобилизованного биокатализатора.

Критерии выбора носителя

Биосовместимость

• Пористость

• Механическая прочность

• Химическая устойчивость

• Стоимость

• Возможность повторного использования.

Основной вывод: Правильный выбор носителя обеспечивает сохранение активности ферментов и жизнеспособности иммобилизованных клеток, повышает стабильность биокатализаторов и эффективность технологических процессов.

Иммобилизация ферментов

Наиболее часто используют
- фитазу
- целлюлазу
- ксиланазу
- β-глюканазу
- протеазу

Применение
- биообработка зерна
- гидролиз соломы
- кормовые технологии

Иммобилизация фермента

Фермент

↓

Закрепление

↓

Носитель

↓

Иммобилизованный фермент

↓

Биообработка

Иммобилизация микробных клеток

Иммобилизация микробных клеток — закрепление жизнеспособных микроорганизмов на поверхности носителя или внутри полимерной матрицы с сохранением их метаболической активности.

1. Основные методы иммобилизации

1. Адсорбция — прикрепление клеток к поверхности пористых носителей.
2. Включение в гель — удерживание клеток в матрице альгината, агарозы или других полимеров.
3. Инкапсуляция — заключение клеток в полупроницаемые капсулы.
4. Биоплёночная иммобилизация — формирование микробных сообществ на поверхности носителей.

2. Преимущества иммобилизованных клеток

Возможность многократного использования микробного биокатализатора.

Повышение устойчивости клеток к отдельным технологическим воздействиям.

Упрощение отделения клеточной биомассы от продукта.

Применение в непрерывных и повторяющихся циклах ферментации.

3. Применение при биообработке зернового сырья

Saccharomyces cerevisiae — ферментация сахаров зерновых гидролизатов с получением биоэтанола.

Молочнокислые бактерии — производство молочной кислоты из доступных углеводов зернового сырья.

Bacillus spp. — биокаталитические процессы с участием продуцируемых ими гидролитических ферментов.

Основной вывод: Иммобилизация микробных клеток позволяет создавать устойчивые биокаталитические системы для эффективной и многократной переработки растительного сырья.

Важно: эффективность иммобилизации зависит от свойств носителя, доступности питательных веществ, диффузии субстратов и продуктов, а также сохранения жизнеспособности микроорганизмов.

Иммобилизация микробных клеток

- **Микроорганизм**

Используют
Lactobacillus
Bacillus
Aspergillus
Saccharomyces
Trichoderma

Иммобилизация клеток

Микроорганизм

↓

Альгинат кальция

↓

Биокапсула

↓

ферментация

↓

Биопродукт

Основные микроорганизмы, используемые для иммобилизации в биотехнологии

Микроорганизм	Биологическая характеристика	Основные ферменты/метаболиты	Основные области применения	Особенности при иммобилизации
Lactobacillus spp.	Грамположительные, факультативно анаэробные молочнокислые бактерии	Молочная кислота, бактериоцины, β-галактозидаза	Производство кисломолочных продуктов, пробиотиков, силосование, функциональные пищевые продукты	Высокая жизнеспособность в альгинатных капсулах, устойчивость к многократному использованию
Bacillus spp.	Грамположительные спорообразующие аэробные бактерии	Амилазы, протеазы, целлюлазы, липазы, ксиланазы	Производство промышленных ферментов, биоудобрений, биоремедиация	Высокая стабильность, хорошая совместимость с различными носителями, устойчивость к высоким температурам
Aspergillus niger	Нитчатый микроскопический гриб	Глюкоамилаза, пектиназа, ксиланаза, фитаза, лимонная кислота	Глубокая переработка растительного сырья, производство органических кислот и ферментов	Хорошо иммобилизуется в гелях и на пористых носителях, высокая продуктивность

Основные микроорганизмы, используемые для иммобилизации в биотехнологии

Микроорганизм	Биологическая характеристика	Основные ферменты/метаболиты	Основные области применения	Особенности при иммобилизации
Saccharomyces cerevisiae	Одноклеточные дрожжи	Этанол, инвертаза, β-глюкан, витамины группы В	Хлебопечение, пивоварение, виноделие, биоэтанол	Хорошо сохраняют жизнеспособность в альгинате, обеспечивают непрерывную ферментацию
Trichoderma reesei (*T. reesei*), **T. harzianum**	Нитчатые почвенные грибы	Целлюлазы, гемицеллюлазы, β-глюкозидаза, хитиназы	Биоконверсия лигноцеллюлозной биомассы, производство ферментов, биологическая защита растений	Высокая ферментативная активность, длительная эксплуатация в непрерывных биореакторах

Наиболее распространённые носители для иммобилизации:

1. кальциевый альгинат (Ca-alginate);
2. агароза;
3. хитозан;
4. полиакриламид;
5. целлюлозные матрицы;
6. силикагель;
7. магнитные наночастицы;
8. металлоорганические каркасы (MOFs).

Современная тенденция (2024–2025)

В последние годы всё более широко применяются **альгинат-хитозановые микрокапсулы**, **магнитные нанокомпозиты** и **3D-печатные биокаталитические матрицы**, которые обеспечивают:

1. повышение механической прочности;
2. увеличение срока службы иммобилизованных клеток и ферментов;
3. улучшение массопереноса субстрата;
4. возможность автоматизированной работы в непрерывных биореакторах.

Иммобилизованные клетки при биообработке зерновых

Отруби

↓

Иммобилизованные *Lactobacillus*

↓

Ферментация

↓

↓

Фитаты ↓

Fe ↑

Zn ↑

Mg ↑

↓

Функциональный продукт

Применение иммобилизованных биокатализаторов в переработке зерновых культур

1. **Ферментативный гидролиз крахмала**

Иммобилизованные α-амилазы и глюкоамилазы обеспечивают расщепление крахмала зерна до декстринов и глюкозы.

Применяются при получении крахмальных гидролизатов и сахаросодержащих сиропов.

2. Повышение пищевой ценности зерновых продуктов

Иммобилизованные фитазы катализируют гидролиз фитиновой кислоты, способствуя повышению потенциальной биодоступности Fe и Zn.

Протеазы модифицируют зерновые белки, изменяя их функционально-технологические свойства.

3. Биоконверсия зерновых побочных продуктов

Целлюлазы и ксиланазы способствуют гидролизу полисахаридов отрубей и других растительных остатков.

Полученные сахара используются как субстраты для последующей микробной ферментации.

4. Микробная ферментация зерновых гидролизатов

Иммобилизованные дрожжи Saccharomyces cerevisiae применяются для получения биоэтанола из ферментируемых сахаров.

Иммобилизованные молочнокислые бактерии перспективны для производства органических кислот.

5. Технологические преимущества

Повторное использование ферментов и микробных клеток.

Повышение стабильности биокаталитических процессов.

Возможность организации непрерывной переработки зернового сырья.

Основной вывод: Иммобилизованные биокатализаторы расширяют возможности глубокой переработки зерновых культур, способствуют повышению эффективности ферментативных процессов и получению продукции с высокой добавленной стоимостью.

Иммобилизованные клетки при биообработке зерновых

Пшеница
Ячмень
Овес
Рожь

Отруби

↓

Иммобилизованные *Lactobacillus*

↓

Ферментация

↓

↓

Фитаты ↓

Иммобилизованная фитаза

Преимущества

✓ повторное использование
✓ снижение стоимости
✓ увеличение срока службы
✓ повышение биодоступности Fe и Zn

Fe

Zn

Mg

↓

Функциональный продукт

Биореакторы для иммобилизованных ферментов и клеток

Биореакторы

- Колонные **(Column reactor)**
- псевдоожиженный слой **(Fluidized-bed reactor)**
- реактор с неподвижным слоем **(packed-bed)**
- мембранные реакторы **(Membrane reactor)**

Выбор типа биореактора определяется:

- свойствами ферментов или микроорганизмов;
- видом носителя для иммобилизации;
- особенностями субстрата;
- требованиями к производительности процесса;
- необходимостью непрерывной или периодической работы.

Конструкция биореактора определяет эффективность массопереноса, удержание биокатализатора, производительность и стабильность непрерывного процесса.

Биореакторы. Основные типы биореакторов для иммобилизованных ферментов и клеток

Тип биореактора	Краткая характеристика	Основные преимущества	Типичные области применения
Колонный (Column reactor)	Вертикальный реактор, заполненный носителем с иммобилизованными ферментами или клетками; субстрат проходит сверху вниз или снизу вверх.	Простая конструкция, низкие эксплуатационные затраты, непрерывная работа.	Очистка воды, биокатализ, производство органических кислот и ферментов.
Реактор с псевдоожиженным слоем (Fluidized-bed reactor)	Частицы носителя находятся во взвешенном состоянии благодаря восходящему потоку жидкости или газа.	Высокий массоперенос, хорошее перемешивание, низкий риск закупорки, высокая производительность.	Ферментативная переработка сырья, биоремедиация, очистка сточных вод, пищевая промышленность.
Packed-bed reactor (реактор с неподвижным слоем)	Иммобилизованный биокатализатор закреплён на неподвижном слое носителя, через который непрерывно проходит субстрат.	Высокая концентрация биокатализатора, длительный срок эксплуатации, простота масштабирования.	Производство сахаров, биоэтанола, аминокислот, пищевых ферментов, фармацевтических продуктов.
Мембранный биореактор (Membrane reactor)	Реактор, совмещённый с полупроницаемой мембраной, обеспечивающей разделение продуктов реакции и удержание ферментов или клеток.	Высокая степень очистки продукта, сохранение биокатализатора, возможность непрерывного процесса.	Биофармацевтика, молочная промышленность, производство биологически активных веществ, очистка сточных вод.

Основные типы биореакторов для иммобилизованных биокатализаторов



Колонный биореактор — вертикальные колонны с подачей газа или жидкости



Реактор с псевдоожиженным слоем — частицы носителя удерживаются во взвешенном состоянии восходящим потоком



Packed-bed reactor — колонна с неподвижным слоем носителя и иммобилизованным биокатализатором



Мембранный биореактор — биореактор, объединённый с системой мембранного разделения

Зерновые культуры как объект биообработки

Зерновые культуры являются основным источником углеводов, растительного белка, пищевых волокон, витаминов и минеральных веществ для населения мира.

Их ежегодное мировое производство превышает 3 млрд тонн, что делает зерно одним из важнейших видов сельскохозяйственного сырья.

Благодаря сложному химическому составу зерно представляет собой перспективный объект биотехнологической переработки. Использование ферментов и микроорганизмов позволяет направленно изменять свойства его компонентов, повышая пищевую ценность, технологические характеристики и усвояемость готовой продукции.

- **Основные зерновые культуры**
- Пшеница (*Triticum aestivum*)
- Ячмень (*Hordeum vulgare*)
- Кукуруза (*Zea mays*)
- Рожь (*Secale cereale*)
- Овёс (*Avena sativa*)
- Рис (*Oryza sativa*)
- Сорго (*Sorghum bicolor*)

Анатомическая структура зерновки и её значение для биообработки

1. Плодовые и семенные оболочки

Содержат клетчатку, гемицеллюлозы, фенольные соединения и минеральные вещества.

Целлюлазы, ксиланазы и ферулоилэстеразы способствуют модификации клеточных стенок и высвобождению связанных соединений.

2. Алейроновый слой

Богат белками, липидами, минеральными веществами и фитатами.

Фитазы способствуют гидролизу фитатов и повышению потенциальной биодоступности Fe и Zn.

3. Крахмалистый эндосперм

Содержит основную часть запасного крахмала и белков зерновки.

Амилазы расщепляют крахмал до декстринов и сахаров, а протеазы осуществляют гидролиз белков.

4. Зародыш

Характеризуется высоким содержанием липидов, белков, витаминов и ферментов.

При проращивании активируются метаболические процессы и синтезируются или активируются гидролитические ферменты.

Биотехнологическое значение

Анатомическое строение зерновки определяет доступность субстратов для ферментативной и микробной обработки.

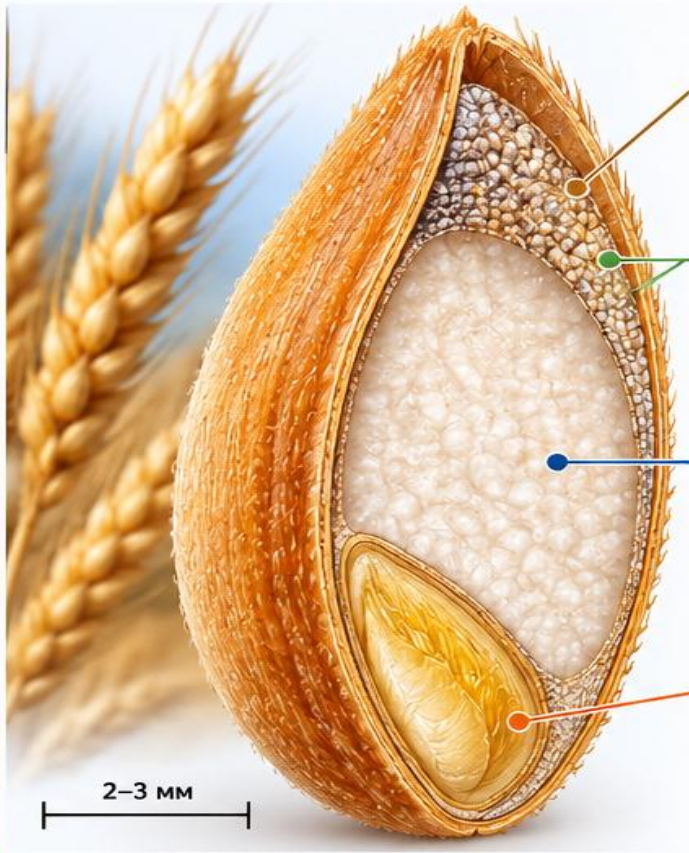
Выбор ферментов зависит от химического состава тканей и целевого продукта.

Предварительное измельчение, замачивание и проращивание могут повышать эффективность последующей биообработки.

Основной вывод: Знание анатомической организации зерна позволяет целенаправленно выбирать методы биообработки для улучшения пищевой ценности, функциональных свойств и эффективности переработки зернового сырья.

Анатомическое строение зерновки и локализация биологически активных компонентов

A. Анатомическое строение зерновки пшеницы



Оболочка
(перикарп + семенная оболочка)
- Защита зерновки
- Пищевые волокна
- Фенольные соединения

Алейроновый слой
- Белки, ферменты
- Фитиновая кислота
- Витамины группы B
- Минеральные вещества

Эндосперм
- Крахмал (60–75 %)
- Запасные белки (глиадины, глютенины)
- Небольшое количество липидов

Зародыш
- Липиды (8–15 %)
- Белки, ферменты
- Витамины (E, B)
- Антиоксиданты
- Минеральные вещества

B. Локализация компонентов и мишени ферментов при биообработке

Компоненты зерновки

Оболочка
- Целлюлоза
- Гемицеллюлозы
- Арабиноксиланы
- Лигнин
- Пищевые волокна
- Фенольные соединения

Алейроновый слой
- Белки
- Фитиновая кислота
- Fe, Zn, Mg, Mn
- Витамины группы B
- Липиды
- Ферменты

Эндосперм
- Крахмал
- Глютеновые белки (глиадины, глютенины)
- Небольшое количество липидов

Зародыш
- Липиды
- Белки
- Витамины (E, B)
- Антиоксиданты
- Минеральные вещества



Ферменты и микроорганизмы

Ксиланазы
Целлюлазы
β-Глюканазы
Разрушение клеточных стенок, снижение вязкости, повышение доступности питательных веществ

Фитаза
Протеазы
Липазы
Гидролиз фитиновой кислоты, повышение биодоступности Fe, Zn, Ca, Mg

α-Амилаза
Глюкоамилаза
Протеазы
Гидролиз крахмала и белков, образование сахаров, улучшение усвояемости

Липазы
Протеазы
Оксидазы
Мобилизация липидов, синтез биоактивных соединений, антиоксидантов и витаминов

Распределение основных компонентов зерновки (% от массы сухого вещества)

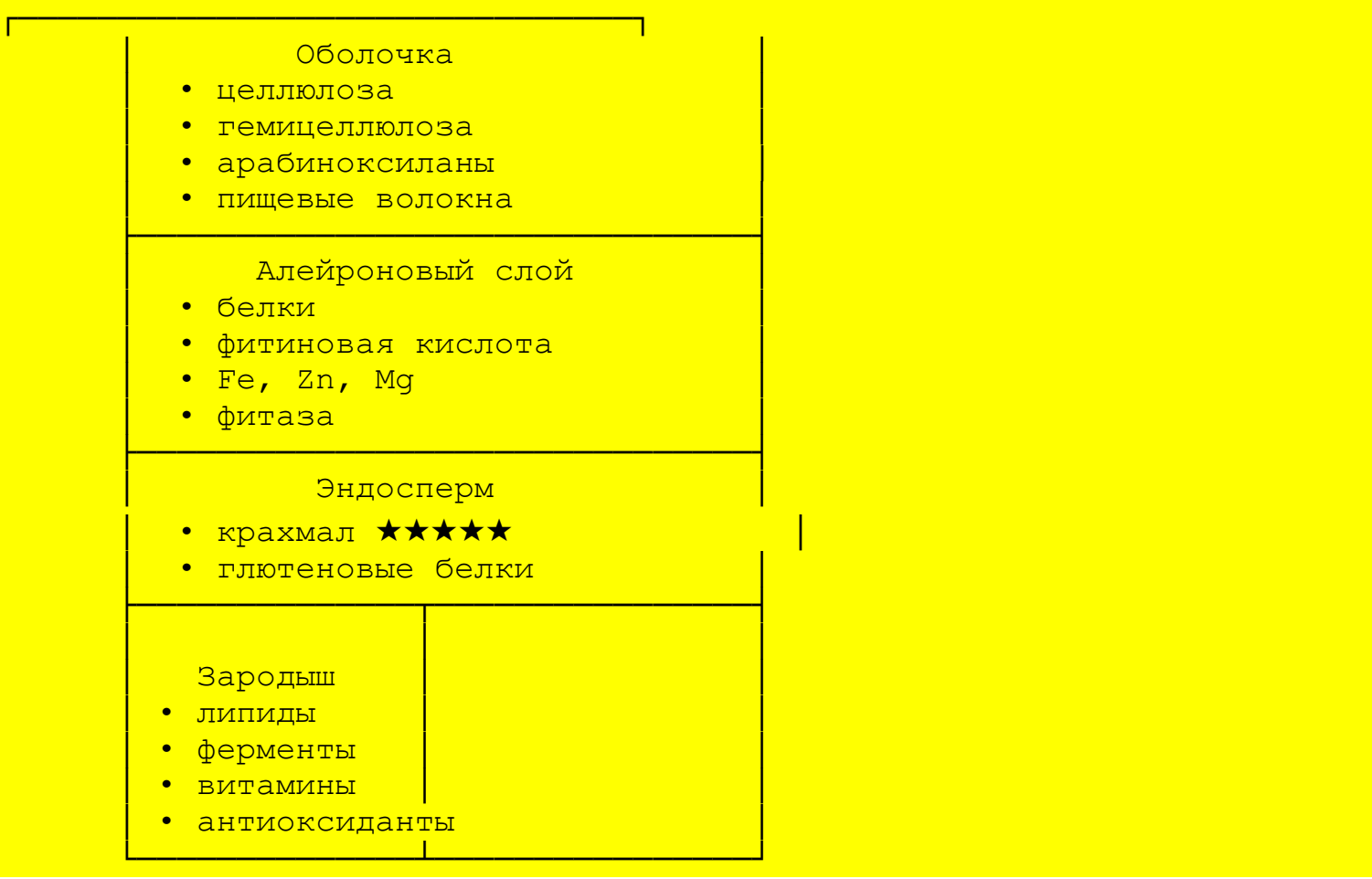
Часть зерновки	Крахмал	Белки	Липиды	Пищевые волокна	Минеральные вещества	Витамины
Оболочка	2–5	8–12	1–3	40–60	2–4	B, E
Алейроновый слой	5–10	20–30	5–8	12–20	4–6	B_1, B_2, B_6
Эндосперм	70–80	8–12	1–2	2–4	0,5–1	Незначительное количество
Зародыш	8–12	20–25	8–15	5–8	3–5	E, B_1, B_2, B_6

Значение для биообработки:

- ✓ направленное воздействие ферментов на целевые компоненты;
- ✓ снижение содержания антипитательных веществ;
- ✓ повышение биодоступности минералов и витаминов;
- ✓ модификация структуры клеточных стенок;
- ✓ улучшение пищевой ценности и технологических свойств зерна.

Знание анатомического строения зерновки необходимо для выбора оптимальных технологий её биообработки.

Локализация биологически активных компонентов



Основная мишень действия фермента на различные части зерновки?

Фермент	Основная мишень действия фермента
α-Амилаза	Крахмал эндосперма
Протеазы	Запасные белки эндосперма и алейронового слоя
Ксиланазы	Клеточные стенки оболочки
Целлюлазы	Целлюлоза оболочки
β-Глюканазы	β-глюканы клеточных стенок
Фитаза	Фитиновая кислота алейронового слоя

Биологическая роль микроэлементов

Микроэлемент	Физиологическая функция	Основные симптомы дефицита	Основные источники
Fe	Кислородный транспорт, дыхание	Анемия, утомляемость	Зерновые, бобовые
Zn	Ферментативная регуляция, иммунитет	Иммунодефицит, задержка роста	Зерно, семена
Mg	Энергетический обмен, фотосинтез	Мышечные спазмы	Зерновые, зелёные ткани

Формы макро- и микроэлементов в растительном сырье

В зерновых культурах макро- и микроэлементы присутствуют в виде ионных форм и комплексных соединений.

Значительная часть Fe и Zn связана с фитиновой кислотой в алейроновом слое, что снижает их биодоступность.

Микроэлемент	Основная форма	Биодоступность
Fe	Фитатные комплексы	Низкая
Zn	Фитатные комплексы	Низкая
Mg	Ионная форма	Средняя

Заключение

1. Иммобилизация ферментов и микробных клеток является эффективным биотехнологическим подходом, обеспечивающим повышение стабильности биокатализаторов и возможность их многократного использования.
2. Основные методы иммобилизации включают адсорбцию, ковалентное связывание, включение в полимерные матрицы и инкапсуляцию. Выбор метода определяется свойствами биокатализатора, носителя и технологическими условиями.
3. Иммобилизованные биокаталитические системы позволяют оптимизировать ферментативные процессы, облегчать отделение биокатализаторов и создавать условия для непрерывной переработки растительного сырья.
4. Биообработка зерновых культур направлена на модификацию крахмала, белков и компонентов клеточных стенок, снижение содержания отдельных антипитательных соединений и улучшение пищевой ценности зерновых продуктов.
5. Современные технологии биообработки зерна включают ферментативный гидролиз, проращивание, микробную ферментацию и комбинированные биотехнологические процессы.
6. Интеграция иммобилизации и технологий биообработки способствует повышению эффективности переработки зернового сырья, рациональному использованию побочных продуктов и развитию ресурсосберегающих производств.

Основной вывод: Применение иммобилизованных биокатализаторов и современных технологий биообработки зерна расширяет возможности получения качественных пищевых ингредиентов и биопродуктов с высокой добавленной стоимостью.

Контрольные вопросы

1. Что такое иммобилизация ферментов?
2. Какие преимущества имеют иммобилизованные ферменты?
3. Какие методы иммобилизации применяются наиболее часто?
4. Какие носители используются для иммобилизации?
5. Почему альгинат кальция широко применяется для иммобилизации клеток?
6. Какие ферменты наиболее востребованы при биообработке зерновых?
7. Как иммобилизация влияет на биодоступность Fe и Zn?
8. Какие преимущества имеют иммобилизованные микроорганизмы по сравнению со свободными клетками?
9. Какие типы биореакторов применяют с иммобилизованными биокатализаторами?

Как технологии иммобилизации способствуют достижению ЦУР 2?

Литература

1. Mazzocato M., Jacquier J.C. *Recent Advances and Perspectives on Food-Grade Immobilisation Systems for Enzymes*. **Foods**. 2024. (MDPI)
2. Wang H. et al. *Enzyme-Immobilized Porous Crystals for Environmental Applications*. **Environmental Science & Technology**. 2024. (ACS Publications)
3. Fan X. et al. *Enzyme Immobilization using Covalent Organic Frameworks*. **ACS Applied Materials & Interfaces**. 2024. (ACS Publications)
4. Barati F. et al. *In silico approaches to investigate enzyme immobilization*. **Physical Chemistry Chemical Physics**. 2024. (Royal Society of Chemistry)
5. Jothyswarupha K.A. et al. *Immobilized enzymes: exploring its potential in food industry applications*. **Food Science and Biotechnology**. 2025. (doi.org)
6. Silva A.R.M. et al. *Innovations in packed-bed reactors utilizing immobilized lipase catalysts*. **Molecular Catalysis**. 2025. (ScienceDirect)
7. Bustos-Terrones Y.A. *Strategic Use of Sodium Alginate Polymer in the Immobilization of Microorganisms*. **Polymers**. 2024. (MDPI)
8. *Advances and Challenges in the Development of Immobilized Enzymes for Batch and Flow Biocatalyzed Processes*. **ChemSusChem**. 2025. (PMC)