

ADRIANA DABIJA
LĂCRĂMIOARA RUSU
IRINA CLAUDIA ALEXA

ENZIMOLOGIE INDUSTRIALĂ

NOTE DE CURS

EDITURA ALMA MATER BACĂU

2007

CUPRINS

1.	Introducere. Biogeneză și răspândire. Denumire și clasificare	9
1.1.	Introducere	9
1.2.	Biogeneză și răspândire	10
1.3.	Denumirea și clasificarea enzimelor	12
1.4.	Exprimarea activității enzimatică	15
1.5.	Utilizarea practică a enzimelor	15
1.5.1.	Importanța enzimelor pentru practica medicală	17
1.5.2.	Utilizarea enzimelor în chimia analitică și sinteza organică	22
1.5.3.	Utilizarea enzimelor în industrie	23
2.	Caracteristicile generale ale enzimelor. Structura enzimelor	27
2.1.	Caracteristicile generale ale enzimelor	27
2.2.	Constituenții enzimelor	28
2.3.	Centrul activ al enzimei	31
2.4.	Organizarea structurală a enzimelor	32
3.	Specificitatea enzimelor	35
3.1.	Specificitatea de reacție	35
3.2.	Specificitatea de substrat	37
3.2.1.	Specificitatea absolută	38
3.2.2.	Specificitatea de grup	38
3.2.3.	Stereospecificitatea	39
3.2.4.	Alte tipuri de specificitate de substrat	40
4.	Descrierea principalelor clase de enzime	41
4.1.	Oxidoreductaze	41
4.1.1.	Oxidoreductaze NAD^+ sau NADP^+ dependente	42
4.1.2.	Oxidoreductaze FAD sau FMN dependente (flavinenzime)	45
4.1.3.	Citocromii	47
4.1.4.	Oxidaze	48
4.1.5.	Alți transportori de electroni	51
4.2.	Transferaze	53
4.2.1.	Aminotransferaze (transaminaze)	54
4.2.2.	Fosfotransferaze (kinaze)	55
4.2.3.	Metiltransferaze	56
4.2.4.	Aciltransferaze	50
4.2.5.	Glicoziltransferaze	57
4.3.	Hidrolaze	58
4.3.1.	Esteraze	59
4.3.2.	Glicozidaze	60
4.3.3.	Proteaze	63
4.3.4.	Amidaze	64
4.3.5.	Polifosfataze	65
4.4.	Liaze	66
4.4.1.	Carbon-carbon liaze	67
4.4.2.	Carbon-oxigen liaze	67
4.4.3.	Carbon-azot liaze	68

4.4.4.	Carbon-sulf liaze	69
4.5.	Izomeraze	69
4.5.1.	Racemaze și epimeraze	70
4.5.2.	Izomeraze cis-trans	70
4.5.3.	Oxidoreductaze intramoleculare	70
4.5.4.	Transferaze intramoleculare	71
4.6.	Ligaze	72
5.	Mecanismul reacțiilor enzimatice	73
5.1.	Mecanisme de acțiune ale unor enzime	74
5.1.1.	Mecanisme de acțiune ale unor enzime monocomponente	74
5.1.2.	Mecanisme de acțiune ale unor metaloenzime	76
5.1.3.	Mecanisme de acțiune ale unor enzime NAD(P) ⁺ - dependente	81
5.1.4.	Mecanisme de acțiune ale unor flavoenzime	86
5.1.5.	Mecanisme de acțiune ale unor enzime TPP-dependente	91
5.1.6.	Mecanisme de acțiune ale unor enzime piridoxalfosfat-dependente	93
5.1.7.	Mecanisme de acțiune ale unor enzime ce conțin CoA-SH în calitate de cofactor	95
5.1.8.	Conversia zimogenilor în enzime active	96
6.	Cinetica reacțiilor enzimatice	99
6.1.	Viteza de reacție	
6.1.1.	Reacții ireversibile	
6.1.2.	Reacții reversibile	
6.1.3.	Reacții consecutive	
6.1.4.	Reacții simultane	
6.2.	Ordinul de reacție	
6.3.	Ecuția Michaelis-Menten	
6.4.	Comportamentul anormal indus de substrat (abateri de la cinetica Michaelis-Menten)	108
6.5.	Efectul concentrației enzimei asupra vitezei reacțiilor catalizate enzimatic	109
6.6.	Efactorii enzimatici	110
6.6.1.	Activatori enzimatici	110
6.6.2.	Efectul inhibitorilor asupra cineticii enzimatice	111
6.7.	Efectul pH-ului asupra cineticii enzimatice	118
6.8.	Efectul temperaturii asupra reacțiilor enzimatice	119
7.	Reglarea activității enzimatice	121
7.1.	Reglarea biosintezei enzimelor	124
7.1.1.	Inducția biosintezei enzimelor	124
7.1.2.	Represia biosintezei enzimelor	125
8.	Mecanismul de reacție la situsul activ al enzimelor	127
8.1.	Apropierea și orientarea substratului. Orientarea orbitalilor	128
8.2.	Cataliza covalentă	128
8.3.	Cataliza acido-bazică	129
8.4.	Factorul de tensiune în cataliza enzimatică: relația între conformația enzimei și activitatea catalitică	130
8.5.	Activarea covalentă a zimogenilor	132
8.6.	Izoenzime	132
9.	Preparate enzimatice	135

9.1.	Materii prime	135
9.2.	Tehnologia de obținere a preparatelor enzimaticice	136
9.3.	Preparate enzimaticice imobilizate	142
10	Biosinteza industrială a enzimelor	147
10.1.	Faza de laborator	147
10.2.	Faza de stație pilot	148
10.3.	Medii de cultură	148
10.4.	Faza industrială	150
10.5.	Prelucrarea mediilor de cultură în scopul izolării și purificării enzimelor	152
10.5.1.	Filtrarea mediilor de biosinteză	153
10.5.2.	Uscarea prin atomizare a mediilor de fermentație cu activitate enzimatică	154
10.5.3.	Utilizările ultrafiltrării la obținerea industrială a enzimelor	154
10.6.	Alte considerații privind biosinteza industrială a enzimelor	155
11.	Enzime microbiene cu aplicații industriale. Domenii de utilizare	157
11.1.	Enzime intracelulare de biosinteză	158
11.2.	Enzimă de biosinteză extracelulare	159
11.3.	Enzime microbiene de uz biochimic	160
12	Obținerea unor preparate enzimaticice uzuale	161
12.1.	Obținerea preparatelor enzimaticice cu activitate amilolitică	161
12.2.	Obținerea enzimelor proteolitice	172
12.3.	Obținerea enzimelor cu activitate celulazică și hemicelulazică	180
12.4.	Obținerea de preparate de glucozizomerază (xilozizomerază)	187
	Bibliografie	191