

Praca dyplomowa inżynierska

Immobilizacja enzymów na chitynie metodą sieciowania epichlorohydryną



Autor: Aneta Owczarczyk

Nr albumu: 258349

Promotor: prof. nzw. dr hab. inż. Małgorzata Jaworska

Rok akademicki: 2016/2017

Wprowadzenie

Obszary obecnych i przyszłych zastosowań biokatalizatorów dotyczą wielu dziedzin przemysłu oraz badań w skali laboratoryjnej. Preparaty enzymatyczne mogą być stosowane między innymi w medycynie, ochronie środowiska, kontroli żywności, w analizie biomedycznej, farmacji oraz do monitorowania bioprocessów w czasie rzeczywistym.

Cel i zakres pracy

Celem pracy jest zbadanie możliwości immobilizacji inwertazy na cząsteczkach chityny aktywowanej przy użyciu epichlorohydryny.

Zakres pracy obejmuje:

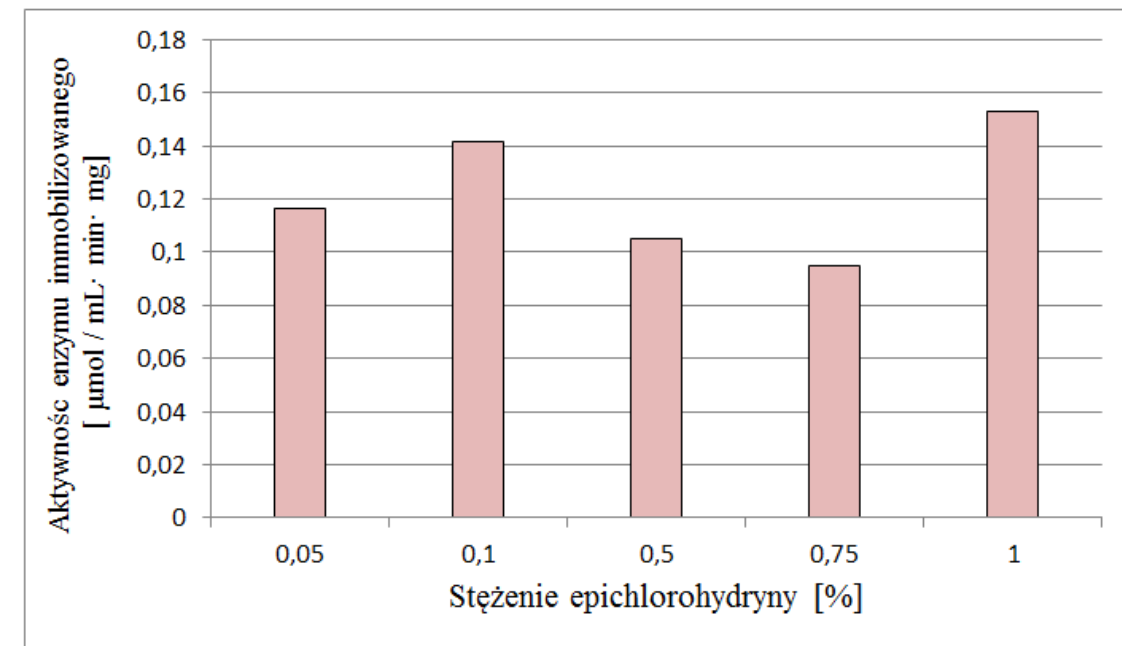
- przegląd literatury dotyczącej metod immobilizacji enzymów oraz materiałów stosowanych jako nośniki,
- wykonanie badań polegających na określeniu wpływu stężenia epichlorohydryny na aktywację powierzchni chityny, pH środowiska na immobilizację inwertazy oraz pH środowiska na przebieg reakcji enzymatycznej z użyciem preparatu immobilizowanego,
- przedstawienie materiałów i metod zastosowanych do zbadania wpływu badanych parametrów na proces immobilizacji oraz aktywność uzyskanego preparatu,
- przedstawienie i dyskusję uzyskanych wyników
- sformułowanie wniosków dotyczących wpływu immobilizacji na aktywność i pH środowiska w którym enzym wykazuje największą aktywność

Część teoretyczna

W części teoretycznej pracy omówiono podstawowe informacje dotyczące enzymów, metod immobilizacji, przedstawiono charakterystykę nośników stosowanych do immobilizacji pochodzenia organicznego, nieorganicznego oraz tzw. nośniki hybrydowe, scharakteryzowano związki wykorzystywane w pracy: chitynę, epichlorohydrynę oraz inwertazę.

Część doświadczalna

W części doświadczalnej pracy określono warunki prowadzenia immobilizacji inwertazy na chitynie poprzez aktywowanie powierzchni nośnika epichlorohydryną. W pierwszej części doświadczenia określono wpływ stężenia epichlorohydryny na ilość immobilizowanego enzymu. Następnie zbadano wpływ pH środowiska na proces immobilizacji. W ostatniej części doświadczenia określono zależność aktywności preparatu od pH środowiska reakcji.



Rysunek 1. Zależność aktywności preparatu od stężenia epichlorohydryny

Wnioski

Aktywując powierzchnię chityny roztworem o stężeniu epichlorohydryny wynoszącym 0,1% obj. otrzymano preparat o dość dużej ilości unieruchomionego białka oraz wysokiej aktywności, w porównaniu z preparatami aktywowanymi roztworami epichlorohydryny o innych stężeniach.

Wykazano również związek między pH środowiska immobilizacji a ilością unieruchomionego enzymu. Stwierdzono że największa ilość enzymu została związana z nośnikiem w środowisku o pH wynoszącym 6.0.

Stwierdzono także, że inwertaza unieruchomiona na chitynie wykazywała największą aktywność wobec środowiska reakcji, którego pH wynosiło 5.0.

Porównując aktywność inwertazy unieruchomionej na nośniku z aktywnością inwertazy w postaci natywnej zaobserwowano, że enzym immobilizowany wykazuje mniejszą aktywność niż enzym natywny. Wartości pH przy których obserwowano najwyższą aktywność nieznacznie się różniły: pH 4.6 dla enzymu natywnego oraz pH 5.0 dla uzyskanego preparatu.