

Praca dyplomowa inżynierska

Badanie sekrecji deacetylazy chitynowej w zależności od fazy wzrostu grzybów *Absidia orchidis*.



Autor: Aleksandra Woźniak

Nr albumu: 253344

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

Rok akademicki: 2018/2019

Wprowadzenie

Chitozan, produkt otrzymywany z chityny, budzi coraz większe zainteresowanie nauki i przemysłu, ze względu na potencjalne zastosowanie w takich dziedzinach jak medycyna, farmacja, ochrona środowiska czy rolnictwo. Obecnie wykorzystywana metoda produkcji chitozanu (metoda chemiczna) niesie za sobą wiele problemów natury środowiskowej. Z tego względu poszukuje się alternatywnych metod wytwarzania chitozanu, dlatego nowa technologia powinna gwarantować powtarzalność struktur oraz właściwości polimeru.

Cel i zakres pracy

Celem pracy było określenie obecności i aktywności (w płynie pohodowlanym oraz w biomasy) enzymu deacetylazy chitynowej w zależności od fazy wzrostu grzybów strzępkowych *Absidia orchidis*.

Zakres pracy obejmował przygotowanie hodowli grzybów strzępkowych *Absidia orchidis*, izolację enzymu z próbek biomasy i płynu pohodowlanego oraz określenie obecności oraz aktywności deacetylazy chitynowej w poszczególnych fazach wzrostu.

Część teoretyczna

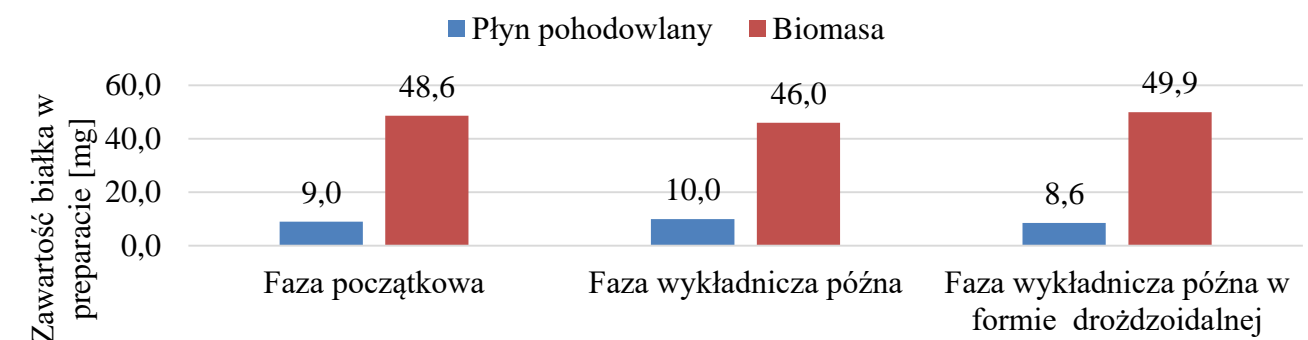
W części przedstawiono ogólne informacje na temat chityny, chitozanu, deacetylazy chitynowej oraz metod prowadzenia hodowli strzępkowych.

Część doświadczalna

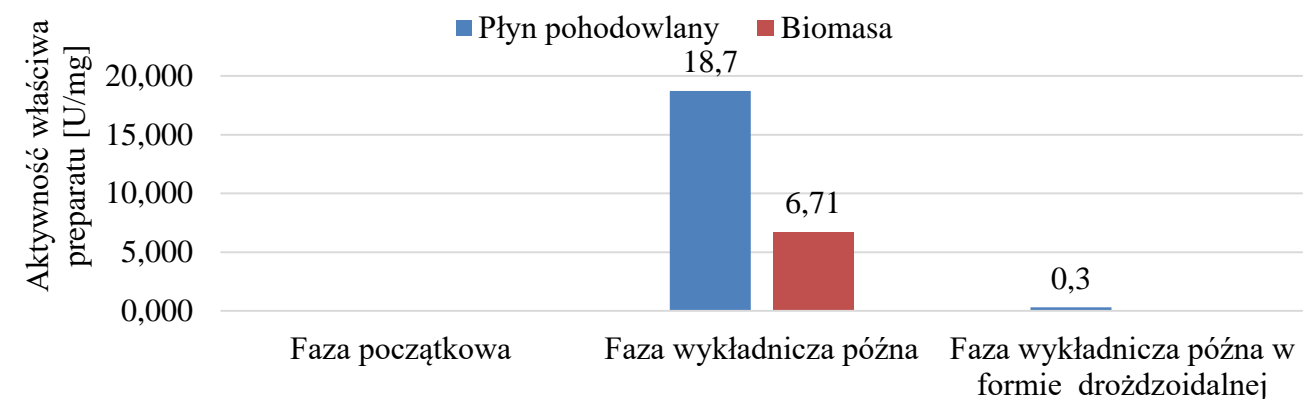
Przeprowadzono szereg hodowli grzybów strzępkowych w bioreaktorze, co umożliwiło pobranie próbek biomasy oraz płynu pohodowlanego w różnych fazach wzrostu: początkowej, wykładniczej, późnej fazy wzrostu przy wzroście biomasy w formie strzępek oraz wykładniczej, późnej fazy wzrostu przy wzroście biomasy w formie drożdży. Przygotowane próbki pozwoliły na przeprowadzenia badań analitycznych, które pozwoliły na określenie stężenia oraz aktywności enzymu deacetylazy chitynowej w poszczególnych próbkach.

Wyniki

Otrzymane wyniki pozwoliły na porównanie stężenia oraz aktywności enzymu deacetylazy chitynowej w poszczególnych próbkach. Najwyższą aktywność odnotowano w płynie pohodowlanym oraz w biomasy w próbkach pobranych z fazy wykładniczej późnej.



Wykres 1. Porównanie zawartości białka w próbkach płynu pohodowlanego oraz biomasy w poszczególnych fazach wzrostu



Wykres 2. Porównanie aktywności deacetylazy chitynowej w próbkach płynu pohodowlanego oraz biomasy w poszczególnych fazach wzrostu

Wnioski

Analizując wyniki możemy potwierdzić, że deacetylaza chitynowa produkowana przez grzyby *Absidia orchidis* jest enzymem zarówno wewnątrz- jak i zewnątrzkomórkowy. Enzym w aktywnej formie pojawia się przede wszystkim w fazie wykładniczej późnej w płynie pohodowlanym jak i we wnętrzu komórek grzybów. Enzym zewnątrzkomórkowy osiąga znacznie wyższą aktywność właściwą w porównaniu z enzymem wewnątrzkomórkowym. W trakcie rozwoju biomasy w fazie początkowej nie zaobserwowano aktywności enzymu, stąd nasuwa się wniosek, że enzym pochodzący z próbek biomasy oraz z płynu pohodowlanego jest nieaktywny lub jest wytwarzany w znikomo małych ilościach. Zbyt długie prowadzenie hodowli prowadzi do zmiany formy morfologicznej grzybów *Absidia orchidis* z formy strzępkowej w formę drożdżoidalną.

Enzym deacetylaza chitynowa może zostać efektywnie wykorzystana w przemysłowej deacetylacji chitozanu, pod warunkiem że zostanie pobrany w fazie wykładniczej późnej, ze względu na największą aktywność enzymu.