

Praca dyplomowa inżynierska

Badanie zastosowania hydrożelu chitozanowego do enkapsulacji enzymów – wpływ masy cząsteczkowej polimeru



Autor: Agata Bułygin

Nr albumu: 283131

Promotor: dr hab. inż. Małgorzata Jaworska, prof. uczelni

Rok akademicki: 2019/2020

Wprowadzenie

Aktywność enzymów zależy od parametrów fizykochemicznych środowiska reakcji takich jak temperatura czy pH, każdy naturalny katalizator ma swoje optimum działania w określonych warunkach. Większą stabilność oraz odporność enzymów na warunki środowiska reakcji można uzyskać poprzez ich immobilizację. Można ją przeprowadzić na wiele sposobów, np. poprzez enkapsulację w hydrożelu polimerowym. W przedstawionej pracy wykorzystano hydrożel chitozanowy. Wytworzony z chitozanu, biopolimeru, który jest pochodną chityny występującej naturalnie między innymi w pancerzach skorupiaków.

Cel i zakres pracy

Celem pracy było zbadanie wpływu masy cząsteczkowej chitozanu na immobilizację inwertazy w hydrożelu chitozanowym.

Zakres pracy obejmował:

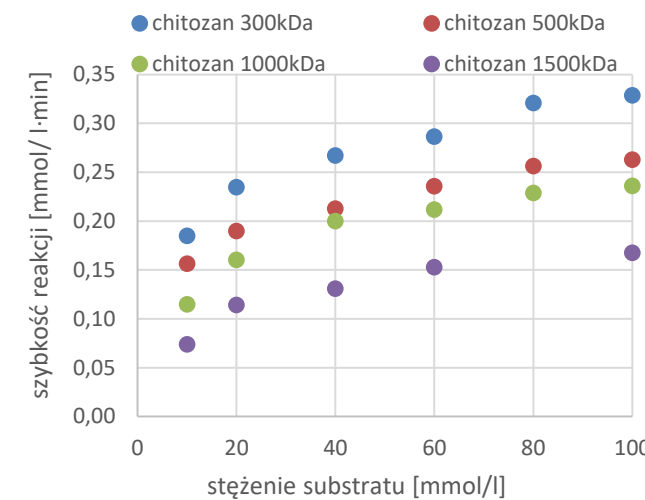
- Omówienie tematu na podstawie literatury
- Wyznaczenie kinetyki enzymu immobilizowanego w hydrożelu chitozanowym otrzymanego z polimeru o różnych masach cząsteczkowych.
- Wyznaczenie parametrów kinetycznych w zaproponowanym modelu reakcji.

Część teoretyczna

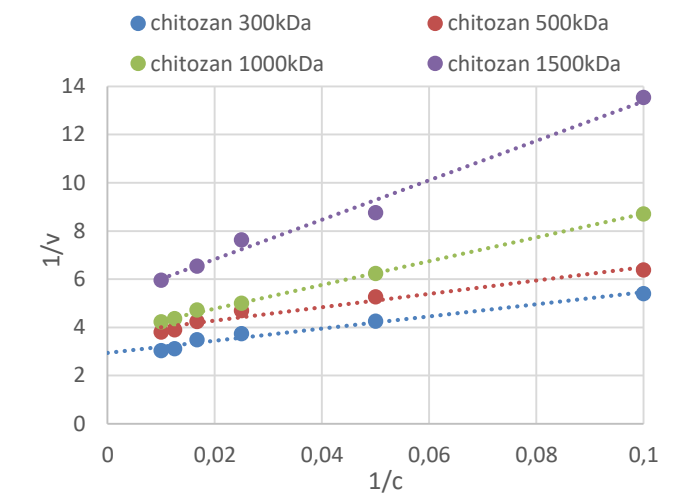
W części teoretycznej zostały przedstawione podstawowe informacje na temat enzymów, metod immobilizacji enzymów oraz charakterystyki: inwertazy, chityny i chitozanu.

Część doświadczalna

W części doświadczalnej enzym inwertazę zamykano w hydrożelu chitozanowym, wytworzonym z chitozanów o odpowiednich masach cząsteczkowych: 300kDa, 500kDa, 1000kDa, 1500kDa. Następnie inicjowano reakcje dodając przygotowany preparat zawierający enzym unieruchomiony w chitozanie do odpowiedniego roztworu sacharozy. Wyznaczono kinetykę reakcji hydrolizy sacharozy.



Rys. 1 Zależność szybkości hydrolizy sacharozy od stężenia substratu przy użyciu enzymu enkapsulowanego w hydrożelu chitozanowym



Rys. 2 Wykres Lineweavera-Burki przy użyciu enzymu enkapsulowanego w hydrożelu chitozanowym

Kinetykę reakcji opisano równaniem Michalisa-Menten. Wyznaczono parametry równania kinetycznego (tab. 1)

Tab. 1 Zestawienie wyznaczonych parametrów równania kinetycznego.

Masa cząsteczkowa chitozanu [kDa]	Porównywany parametr	
	k_3 [1/min]	K_m [mmol/l]
300	22,93	8,36
500	18,11	10,44
1000	17,80	13,01
1500	13,01	16,11

Wnioski

Wzrost masy cząsteczkowej chitozanu wykorzystanego do immobilizacji inwertazy powodował spadek szybkości reakcji dla tego samego stężenia substratu. Zaobserwowano także wyraźny wpływ na wartości wyznaczonych parametrów kinetycznych w modelu Michaelisa-Menten: wartość stałej szybkości reakcji k_3 malała, zaś wartość stałej Michaelisa K_M rosła wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej polimeru. Może to świadczyć o rosnących oporach transportu masy spowodowanych prawdopodobnie gęstszym upakowaniem łańcuchów chitozanu w nośniku.