

Praca dyplomowa inżynierska

Badanie zastosowania hydrożelu chitozanowego do enkapsulacji enzymów – wpływ stężenia polimeru



Autor: Agnieszka Dżugan

Nr albumu: 286456

Promotor: dr hab. inż. Małgorzata Jaworska, profesor PW

Rok akademicki: 2019/2020

Wprowadzenie

Enzymy są białkami katalizującymi reakcje chemiczne. W wielu przypadkach stosowanie enzymów zamiast tradycyjnych katalizatorów chemicznych jest bardziej korzystne ze względu na dużą wydajność katalityczną jak również specyficzność substratową.

Immobilizacja na nośniku jest metodą pozwalającą na zwiększenie stabilności termicznej i chemicznej enzymów. Umożliwia ona również łatwiejsze oddzielenie białek od produktów reakcji oraz ich wielokrotne wykorzystanie w procesach przemysłowych.

Cel i zakres pracy

Celem pracy jest przeprowadzenie reakcji hydrolizy sacharozy z zastosowaniem inwertazy immobilizowanej przy użyciu chitozanu o różnych stężeniach i zbadanie wpływu stężenia polimeru na kinetykę reakcji hydrolizy.

Zakres pracy obejmuje:

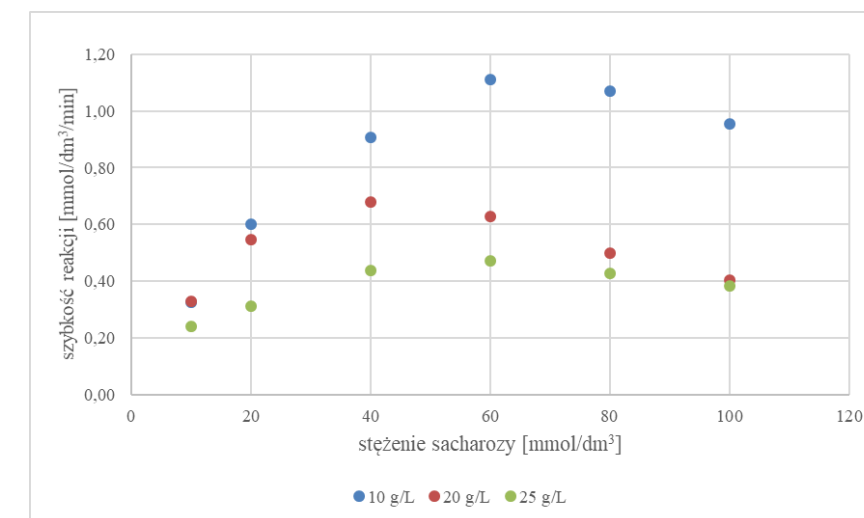
- Przegląd literatury dotyczącej metod immobilizacji enzymów oraz zastosowania chitozanu jako nośnika do unieruchamiania inwertazy.
- Przygotowanie preparatów enzymatycznych w postaci inwertazy immobilizowanej w sieci chitozanu, dla stężeń polimeru 10 g/L, 20 g/L oraz 25 g/L
- Przeprowadzenie reakcji hydrolizy sacharozy z wykorzystaniem wytworzonych kulek chitozanowych dla stężeń sacharozy z zakresu od 0,01 M do 0,1 M
- Wyznaczenie parametrów kinetycznych dla przeprowadzonych reakcji

Część teoretyczna

W części teoretycznej zostały omówione podstawowe właściwości enzymów oraz metody immobilizacji enzymów. Scharakteryzowano również enzym używany w badaniach - inwertazę oraz chitozan, który pełnił rolę nośnika. Opisano także model kinetyczny Michaelisa – Menten i przedstawiono przykłady zastosowania chitozanu jako nośnika do immobilizacji inwertazy.

Część doświadczalna

W części doświadczalnej przygotowano preparaty enzymatyczne poprzez zamknięcie inwertazy w sieci polimeru. Używano roztworów chitozanu o stężeniach 10 g/L, 20 g/L oraz 25 g/L. Wytworzone kulki chitozanowe z immobilizowaną inwertazą wykorzystano do przeprowadzenia reakcji hydrolizy sacharozy w zakresie stężeń od 0,01 M do 0,1 M



Rysunek 1. Zależność szybkości reakcji od stężenia sacharozy dla poszczególnych stężeń chitozanu

stężenie chitozanu [g/L]	$k_3 \left[\frac{\text{mol}}{\text{dm}^3 \text{min}} \right]$	$K_m \left[\frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \right]$	$K_I \left[\frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \right]$
10	94,4	0,0594	0,0925
20	39,5	0,0190	0,1065
25	19,0	0,0113	0,4001

Tabela 1. Wyznaczone wartości stałej szybkości reakcji, stałej Michaelisa oraz stałej inhibicji dla różnych stężeń chitozanu

Wnioski

Stała szybkości reakcji k_3 maleje wraz ze wzrostem stężenia chitozanu. Niższe wartości szybkości reakcji przy wyższych stężeniach chitozanu mogą być spowodowane większymi oporami dyfuzyjnymi przy transporcie masy wewnątrz kulek chitozanowych. Stała Michaelisa osiąga największą wartość dla stężenia chitozanu 10 g/L, a najmniejszą w przypadku stężenia 25 g/L. Dla wszystkich stężeń chitozanu szybkość reakcji początkowo rośnie ze wzrostem stężenia sacharozy po czym osiąga wartość maksymalną, a następnie zaczyna maleć, co wskazuje na występowanie inhibicji substratowej. Wartość stałej inhibicji K_I rośnie wraz ze wzrostem stężenia polimeru.