

Praca dyplomowa inżynierska

Badanie immobilizacji enzymów na chitynie metodą sieciowania glutaraldehydem

Autor: Aleksandra Olszewska

Nr albumu: 258346

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

Rok akademicki: 2016/2017



Wprowadzenie

Aby wielokrotnie wykorzystać enzymy, białka będących katalizatorami reakcji chemicznych, zaczęto je unieruchamiać, np. poprzez związanie z nośnikiem stałym, np. z chityną. Chityna jest polisacharydem będącym ważnym składnikiem budulcowym np. pancerzy krewetek. W wyniku wiązania glutaraldehydu z chityną powstają „ramiona” (ang. *spacer arms*), pozwalające na unieruchomienie enzymu.

Wybrany enzym, inwertaza, katalizuje reakcję hydrolizy sacharozy do glukozy i fruktozy.

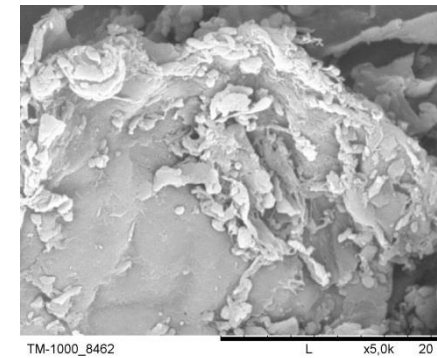
Cel i zakres pracy

Celem pracy było zbadanie możliwości immobilizacji enzymu-inwertazy na chitynie metodą sieciowania glutaraldehydem. Zakres pracy obejmuje następujące badania:

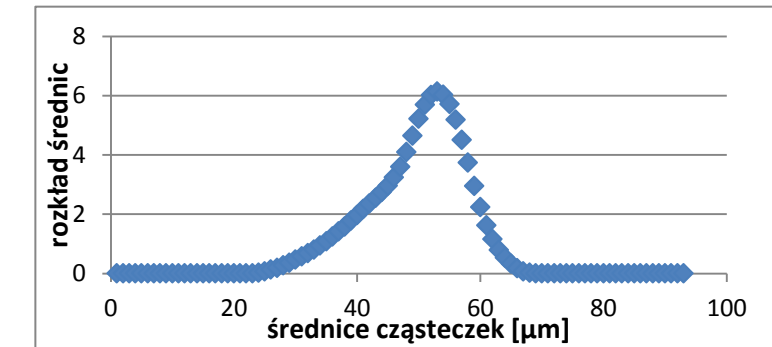
- powierzchni chityny metodą mikroskopii elektronowej
- rozkładu wielkości cząsteczek chityny
- wpływu stężenia roztworu glutaraldehydu, aktywującego powierzchnie chityny, na aktywność preparatu.
- wpływu pH środowiska immobilizacji na ilość enzymu immobilizowanego.
- wpływu pH środowiska reakcji na aktywność unieruchomionego enzymu.

Prezentacja wyników

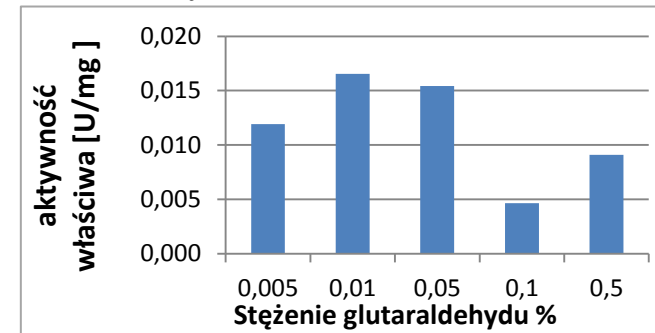
Sfotografowano powierzchnię chityny skaningowym mikroskopem elektronowym (powiększenie 5000 razy) (Rys. 1). Określono też rozkład wielkości cząstek chityny (Rys.2). Przedstawiono wykresy obrazujące wpływ stężenia roztworu glutaraldehydu, aktywującego powierzchnie chityny, na aktywność preparatu (Rys. 3); wpływ pH środowiska immobilizacji na ilość enzymu immobilizowanego (Rys. 4) oraz wpływ pH środowiska reakcji na aktywność enzymu immobilizowanego (Rys. 5). Określono również aktywność enzymu natywnego (Tabela 1).



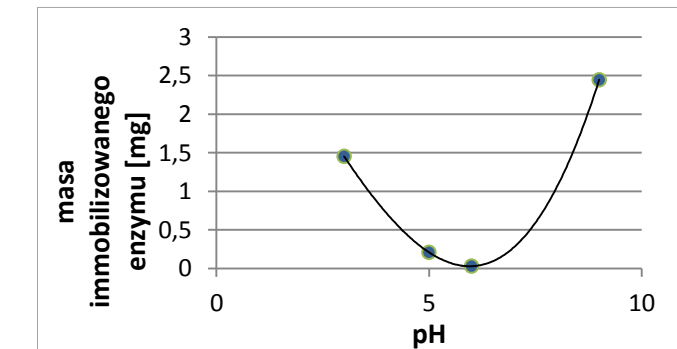
Rysunek 1



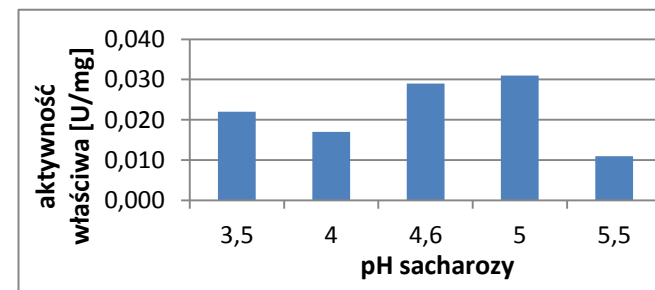
Rysunek 2



Rysunek 3



Rysunek 4



Rysunek 5

Tabela 1

Masa enzymu [mg]	Aktywność właściwa [U/mg]
2,000	0,131

Na powierzchni chityny zaobserwowano strukturę porowatą. W badanej próbce było najwięcej cząsteczek o średnicy 52,62 μm. Najwyższą aktywność preparatu uzyskano dla chityny aktywowanej 0,01% roztworem glutaraldehydu, ok. 15% aktywności enzymu natywnego. Najwięcej inwertazy zostało unieruchomione na nośniku przy pH wynoszącym 9,0. Preparat immobilizowanej na chitynie inwertazy wykazywał najwyższą aktywność przy pH środowiska wynoszącym 5,0; ok. 24% aktywności enzymu natywnego.

Wnioski

Rozwinięcie powierzchni chityny w postaci porów jest korzystne, bowiem daje to większą powierzchnię do immobilizacji enzymów. Aktywacja powierzchni chityny roztworem glutaraldehydu jest możliwa, a immobilizowany na niej enzym- inwertaza, jest aktywny. pH środowiska immobilizacji ma wpływ na ilość immobilizowanego enzymu a, pH roztworu sacharozy ma wpływ na aktywność enzymu immobilizowanego. Odnotowano, przesunięcie optimum pH reakcji w porównaniu z enzymem natywnym (dla natywnego $pH_{op} = 4,62$).