

# Praca dyplomowa inżynierska

## Badanie immobilizacji enzymów na chitynie aktywowanej glutaraldehydem i epichlorohydryną



**Autor: Patryk Łukasz Matycki**

Nr albumu: 268640

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

Rok akademicki: 2018/2019

### Wprowadzenie

Enzymy dzięki swoim właściwościom katalitycznym mogą być wykorzystywane jako katalizatory reakcji w złożonych procesach chemicznych.

W celu wielokrotnego wykorzystania biokatalizatorów w procesach przemysłowych, zaczęto immobilizować enzymy. Unieruchomione enzymy wykazują większą stabilnością termiczną oraz chemiczną

Immobilizacja enzymów na nierozpuszczalnych nośnikach pozwala między innymi na wielokrotne używanie enzymu, prowadzenie procesów ciągłych, ułatwia separację tych białek ze środowiska reakcji.

### Cel i zakres pracy

Celem pracy było zbadanie możliwości immobilizacji inwertazy na chitynie aktywowanej glutaraldehydem i epichlorohydryną.

Zakres pracy obejmował:

- Część teoretyczną dotyczącą immobilizacji inwertazy na chitynie,
- Wyznaczenie kinetyki: enzymu natywnego, enzymu unieruchomionego na chitynie aktywowanej glutaraldehydem oraz enzymu unieruchomionego na chitynie aktywowanej glutaraldehydem i epichlorohydryną.
- Zbadanie aktywności inwertazy w formie natywnej.
- Zbadanie aktywności inwertazy unieruchomionej na chitynie aktywowanej glutaraldehydem.
- Zbadanie aktywności inwertazy unieruchomionej na chitynie aktywowanej glutaraldehydem i epichlorohydryną.

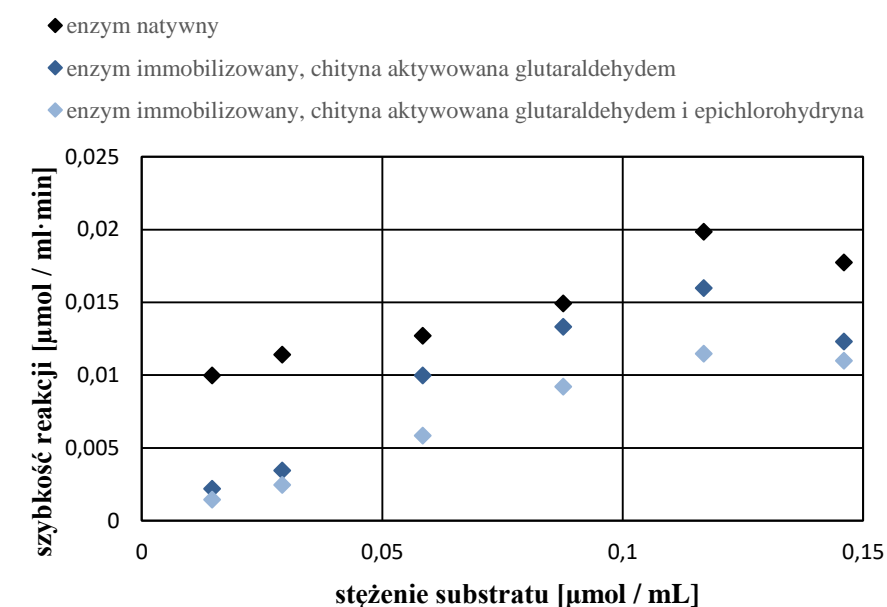
### Część teoretyczna

W części teoretycznej omówiono podstawowe wiadomości o enzymach, metody immobilizacji enzymów, oraz charakterystyki: inwertazy, sacharozy, glutaraldehydu i epichlorohydryny.

### Część doświadczalna

W części doświadczalnej powierzchnię chityny funkcjonalizowano za pomocą glutaraldehydu, a następnie związano z nią enzym. Następnie nośnik z przyłączonym już enzymem, aktywowano za pomocą epichlorohydryny i ponownie przeprowadzono immobilizację enzymu na tak przygotowanym nośniku. Jako enzym stosowano inwertazę.

Wyznaczono kinetykę hydrolizy sacharozy przy użyciu inwertazy natywnej, oraz otrzymanych po immobilizacji preparatów.



**Rys 1.** Zależność szybkości hydrolizy sacharozy przy użyciu enzymu natywnego i enzymów po każdym etapie immobilizacji.

### Wnioski

Szybkości reakcji preparatów po każdym etapie immobilizacji maleją. W każdym etapie doświadczenia zaobserwowano inhibicję substratową inwertazy oraz odczytano stężenie wysycenia równe  $0,04 \text{ mg} / \text{mL}$ .

Aktywacja cząsteczek chityny za pomocą glutaraldehydu jest możliwa, a enzym unieruchomiony na tak przygotowanej chitynie posiada niższą aktywność w porównaniu do enzymu natywnego (8,6% aktywności enzymu natywnego). Immobilizacja enzymu na chitynie aktywowanej glutaraldehydem i epichlorohydryną jest możliwa, niemniej jednak, enzym związany z tak przygotowaną chityną wykazuje znacznie mniejszą aktywność niż enzym natywny (5,4% aktywności enzymu natywnego), oraz niewiele mniejszą w porównaniu z enzymem unieruchomionym na chitynie aktywowanej glutaraldehydem.