

Praca dyplomowa inżynierska

Badanie sposobu przygotowania nośnika chitozanowego na aktywność immobilizowanego enzymu



Autor: Magdalena Filipkowska

Nr albumu: 283144

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

Rok akademicki: 2019/2020

Wprowadzenie

Zbadano wpływ sposobu immobilizacji na aktywność enzymu. W badaniach wykorzystano chitozan w formie żelu oraz proszku o odpowiedniej granulacji. Enzymem wybranym do badań była inwertaza. Jest to enzym hydrolizujący sacharozę do glukozy i fruktozy. Zarówno enzym jak i kinetyka reakcji hydrolizy jest dobrze poznana i opisana w literaturze, zatem różnice w zachowaniu przygotowanych preparatów świadczyły o wpływie sposobu immobilizacji na aktywność preparatu.

Cel i zakres pracy

Celem pracy było zbadanie wpływu sposobu immobilizowania enzymu na nośniku chitozanowym na aktywność preparatu. Przygotowano preparaty w których enzym unieruchomiony był wewnątrz żelu chitozanowego, na jego powierzchni oraz na powierzchni chitozanu w formie proszku.

Zakres pracy objął:

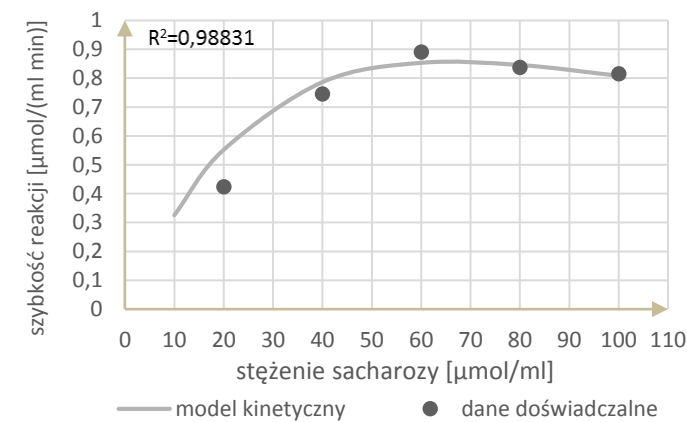
- Przegląd literatury dotyczącej chitozanu, inwertazy, ich właściwości i zastosowań, kinetyki reakcji hydrolizy sacharozy, metod immobilizacji,
- Wyznaczenie kinetyki reakcji hydrolizy sacharozy katalizowanej przez inwertazę immobilizowaną wewnątrz lub na powierzchni chitozanu
- Zbadanie kinetyki hydrolizy sacharozy, wyznaczenie parametrów w zaproponowanym równaniu, wyznaczenie aktywności preparatów

Część teoretyczna

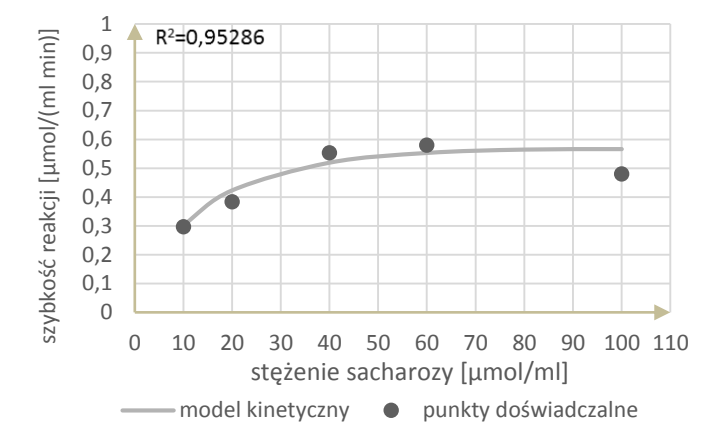
Część teoretyczna zawierała w sobie informacje na temat enzymów, sposobów ich immobilizacji, inwertazy jako enzymu użytego w badaniach oraz chitozanu jako nośnika

Część doświadczalna

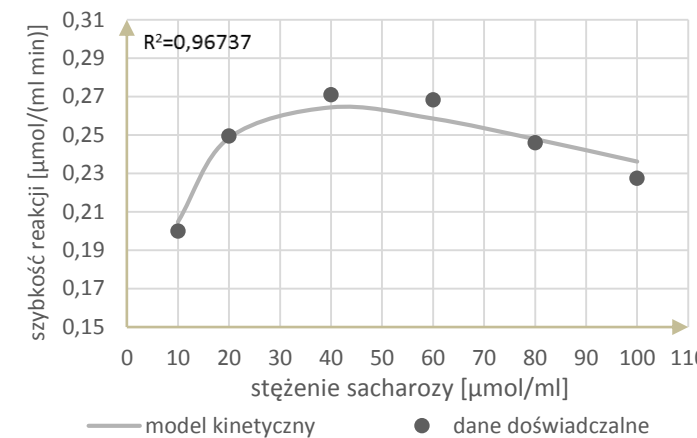
W części doświadczalnej opisano przygotowanie roztworów i kolejne kroki prowadzenia badań. Dla danych doświadczalnych uzyskanych w reakcjach hydrolizy sacharozy katalizowanych za pomocą enzymu immobilizowanego wewnątrz nośnika żelowego, na jego powierzchni oraz na powierzchni proszku chitozanowego zaproponowano równanie opisujące kinetykę reakcji. Omówiono również metody obliczeniowe użyte w celu wyznaczenia szukanych parametrów w równaniach kinetycznych oraz wartości aktywności.



Rys 1: Immobilizacja wewnątrz nośnika żelowego



Rys 2: Immobilizacja na powierzchni nośnika żelowego



Rys 3: Immobilizacja na powierzchni nośnika w formie proszku

Tabela 1: Wartości parametrów kinetycznych i aktywności

Typ immobilizacji	Parametr kinetyczny			Aktywność właściwa [μmol/(min · mg)]
	k_3 [1/min]	K_M [μmol/ml]	K_I [μmol/ml]	
wewnątrz nośnika żelowego	182,2	71,37	61,43	4,450
na powierzchni nośnika żelowego	4,284	14,206	630,98	1,448
na powierzchni nośnika w formie proszku	2,933	7,0462	224,17	0,6775

Wnioski

Aktywność preparatu inwertazy immobilizowanej wewnątrz nośnika żelowego była najwyższa i ponad trzykrotnie przewyższała aktywności uzyskane dla preparatów z enzymem immobilizowanym powierzchniowo. Reakcje katalizowane enzymem immobilizowanym na powierzchni obu form nośników były znacznie wolniejsze od reakcji katalizowanej enzymem osadzonym wewnątrz nośnika żelowego. We wszystkich przypadkach dane doświadczalne opisano równaniem inhibicji substratowej, wyznaczono parametry w zaproponowanym modelu.