

mgr inż. Joanna Bodakowska-Boczniewicz

„Badania nad otrzymywaniem i unieruchamianiem naringinazy z *Aspergillus niger*”

Celem podjętych w ramach rozprawy badań była immobilizacja na magnetycznym polisacharydowym nośniku naringinazy otrzymanej z hodowli wstrząsanej *Aspergillus niger* KMS.

W pierwszym etapie prowadzonych badań, ustalono skład podłoża do biosyntezy naringinazy z *Aspergillus niger* KMS. Induktorem procesu biosyntezy była naringina oraz sproszkowane albedo, flawedo i błony segmentowe grejpfruta czerwonego. Jako źródło węgla wybrano ramnozę, natomiast źródłem azotu był ekstrakt drożdżowy i azotan (V) sodu. Biosynteza naringinazy najkorzystniej przebiegała w podłożu hodowlany o składzie ($\text{g} \cdot 100 \text{ cm}^{-3}$): 4,011 - NaNO_3 ; 3,636 - ekstrakt drożdżowy; 0,185 - KH_2PO_4 ; 0,902 - albedo grejpfruta czerwonego; 0,174 - naringina; 2,785 - ramnoza.

Otrzymany płyn pohodowlany *Aspergillus niger* KMS zatężono oraz wytrącono białko. W efekcie otrzymano preparat naringinazy o wysokiej aktywności, równej $816 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$.

W następnym etapie badań otrzymany preparat immobilizowano. Aktywność naringinazy zaadsorbowanej na nośniku otrzymanym na bazie gumy karobowej aktywowanym polietylenoiminą była najwyższa. Adsorpcja enzymu na magnetycznym nośniku była procesem odwracalnym. Skutecznie przeprowadzono regenerację nośnika poprzez desorpcję naringinazy z jego powierzchni przy użyciu 10% wodnego roztworu chlorku sodu.

W kolejnym etapie badań zwiększono siłę wiązania unieruchomionej naringinazy, poprzez jej dodatkowe pokrycie aldehydem dekstranowym. Tak stabilizowany enzym charakteryzował się najwyższą aktywnością w pH 3,5 i temperaturze 65°C , wysoką stabilnością w kwaśnym środowisku i wysokich temperaturach, oraz dobrą stabilnością operacyjną. Są to parametry sprzyjające potencjalnym zastosowaniom przemysłowym, biorąc pod uwagę kwasowość soków cytrusowych.

W ostatnim etapie badań naringinazę stabilizowaną aldehydem dekstranowym wykorzystano do hydrolizy naringiny zawartej w świeżym i modelowym soku grejpfrutowym.

Za pomocą modelowania matematycznego produktywności naringinazy w funkcji temperatury i czasu ustalono, że 45°C jest optymalną temperaturą hydrolizy naringiny przez stabilizowany enzym. Z uwagi na trwałość termolabilnych składników soków z owoców cytrusowych oraz wysoką potencjalną produktywność reakcję hydrolizy prowadzono także w 25°C. Naringinaza kowalencyjnie związana na magnetycznym, polisacharydowym nośniku, skutecznie zhydrolizowała naringinę zawartą w sokach grejpfrutowym.

Joanna Bodakowska - Bożeniewicz