



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

211694

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 12 N 11/02

/22/ Prihlášené 13 03 80
/21/ /PV 1729-80/

(40) Zverejnené 31 07 81

(45) Vydané 15 05 83

(75)

Autor vynálezu

REXOVÁ-BENKOVÁ LUBOMÍRA RNDr. CSc., OMELKOVÁ JIŘINA ing., BRATISLAVA,
KUBÁNEK VLADIMÍR doc. ing. CSc., KRALUPY NAD VLTAVOU

(54) Spôsob prípravy imobilizovanej endopolygalakturonázy

1

Vynález sa týka spôsobu prípravy imobilizovaného pektolytického enzýmu endopolygalakturonázy /poly-alfa-1,4-D-galacturonid glycanohydrolase, E. C. 3. 2. 1. 15/, ktorá špecificky katalyzuje náhodné štiepenie vnútorných alfa-1,4 glykoxidických väzieb v molekule kyseliny pektovej, resp. pektínu a spôsobuje tým výrazné zníženie viskozity ich roztokov.

Doteraz známe imobilizácie tohto enzýmu sa zakladajú na kovalentnom viazaní na nerozpustné nosiče typu Sepharózy, hydroxyalkylmetakrylátu, alebo celulózy, po ich aktivácii brómkyanom, prípadne na gél polyakrylovej kyseliny pomocou karbodiimidu.

Obecnou nevýhodou týchto postupov je operačná zložitosť, podmienená nutnosťou aktivácie nosiča pred imobilizáciou enzýmu. U nosičov aktivovaných brómkyanom navyše dochádza často k postupnému uvoľňovaniu zakotveného enzýmu do roztoku.

Ďalším nedostatkom je zmena spôsobu účinku kovalentne viazaného enzýmu na polymérne substráty, podmienená sterickými efektami, ktorá sa prejavuje pomalším znížením viskozity ich roztokov než rozpustným enzýmom pri rovnakom stupni degradácie.

Uvedené nedostatky sa odstraňujú postupom podľa vynálezu, ktorého podstatou je, že sa enzým adsorbuje pri pH 3,8 až 4,6 a laboratórnej teplote na polymér obsahujúci v hlavnom reťazci esterovú skupinu, na bázi diolov a dikarboxylových kyselín, s výhodou na polyetylén-tereftalát.

Výhoda spôsobu prípravy imobilizovanej endopolygalakturonázy spočíva v operačnej jednoducho-
stí postupu a stálosti zakotvenia, čo pri dodržiavaní optimálnych podmienok enzymovej
211694

reakcie umožňuje používať imobilizovaný enzým opakovane, alebo v dlhodobých kontinuálnych procesoch.

Ďalšou prednosťou preparátu pripraveného podľa postupu je, že spôsob jeho účinku na polymérne substráty nie je tak výrazne pozmenený oproti nezakotvenému enzýmu ako v prípade preparátov, v ktorých bol enzým imobilizovaný kovalentným viazaním.

Spôsob prípravy podľa vynálezu je vysvetlený na nasledujúcich príkladoch.

P r í k l a d 1

Endopolygalakturonáza prítomná v technických preparátoch pektináz, alebo z nich pripravená ľubovoľným postupom, napr. afinitnou chromatografiou na sieťovanej kyseline pektovej, bola imobilizovaná na polyetyléntereftalát pripravený z etylénglykolu a kyseliny tereftalovej podľa nasledujúceho postupu: k 1 g polyetyléntereftalátu premytom 0,1 M octanovým tlmivým roztokom o pH medzi 3,8 a 4,6 a suspendovanému v 10 ml tohto tlmivého roztoku sa pridá 10 mg endopolygalakturonázy rozpustenej v tlmivom roztoku. Po 4 hodinách miešania pri laboratórnej teplote sa gél oddelí vhodným spôsobom /filtrácia, dekantácia, centrifugácia/.

P r í k l a d 2

Polyetyléntereftalát suspendovaný vo vode alebo tlmivom roztoku o pH medzi 3,8 a 4,6 sa naplní do kolóny. Cez kolónu sa filtruje roztok obsahujúci endopolygalakturonázu dovtedy, kým efluent nevykazuje enzýmovú aktivitu. Kolóna sa potom premyje octovým tlmivým roztokom pH 4,0 až 4,4.

Schopnosť imobilizovaného enzýmu katalyzovať zmienú degradáciu pektínových látok je závislá na obsahu adsorbovateľných kontaminujúcich látok vo východnom enzýmovom preparáte a tvorí približne 35 až 60 % schopnosti nezakotveného enzýmu.

Význam vynálezu spočíva v tom, že imobilizovaná endopolygalakturonáza má využitie v konzervárskom priemysle pri príprave štiav a muštov.

P R E D M E T V Y N Á Ľ E Z U

Spôsob prípravy imobilizovanej endopolygalakturonázy vyznačený tým, že sa enzým adsorbuje pri pH 3,8 až 4,6 a laboratórnej teplote na polymérnu látku typu polykondenzátu na báze diolov a dikarboxylových kyselín, s výhodou na polyetyléntereftalát.