

Maksimalna proizvodnja intracelularne lipaze s pomoću mutanta

Rhizopus oligosporus DGM 31: kinetička studija

Sažetak

Primjenom različitih supstrata, veličina inokuluma, pH-vrijednosti podloge, temperature i izvora dušika regulirana je i maksimizirana proizvodnja lipaze s pomoću mutanta *Rhizopus oligosporus* DGM 31 u pokusima na tresilici i šaržnim procesom u reaktoru. Proizvodnja intracelularne lipaze povećala se 3 puta optimiranjem podloge i prozračivanjem reaktora. Dodatak ulja malo je poboljšao proizvodnju lipaze, a znatno je poboljšana dodatkom šećera, osobito škroba, lakoze, saharoze, ksiloze, glukoze i glicerola. Ispitane su ove zavisne varijable: masa stanica, aktivnost i prinos lipaze, te specifična i volumetrijska brzina nastajanja enzima. Dokazano je da proizvodnja lipaze s pomoću mutanta ne ovisi o represiji s katabolitima. Vrijednosti prosječne specifične produktivnosti pri različitim temperaturama, izračunate prema Arrheniusovoj jednadžbi, pokazuju da mutacija smanjuje količinu entalpije i entropije potrebne za postizanje ravnotežne inaktivacije tijekom formiranja produkta, te da je omogućila odvijanje toplinski puno stabilnijeg metaboličkog procesa u organizmu. Korištenjem optimirane podloge u reaktoru postignuta je dosad najveća volumetrijska produktivnost lipaze ($Q_p=7,3$ IU/g škroba/h). Pročišćeni je enzim monomeran i stabilan čak i do 80 °C i pri pH-vrijednosti od 6,0 do 8,0. Veliku termostabilnost lipaze dokazuju: energija aktivacije, entalpija i entropija, potrebne za provedbu katalize pri 50 °C, Gibbsova slobodna energija utrošena za vezanje supstrata, stabilnost prijelaznog stanja i točka taljenja.

Ključne riječi: lipaze, *Rhizopus oligosporus*, ulja, kazein, amonijev nitrat, amonijev oksalat, škrob, glicerol