

# **A pH stat módszer alkalmazása lipáz enzim aktivitásának meghatározására és bioaktívok hatásának vizsgálatára**

**Bóday Ábel Barnabás**

Biomérnöki alapképzési szak, nappali tagozat  
Élelmiszerkémia és -Analitika Tanszék

*Belső témavezető:* Dr. Tormási Judit, egyetemi adjunktus, MATE, ÉTTI, ÉKAT

A kutatásom során pH statikus módszerrel vizsgálom kétfajta lipáz enzim (gyomor- és  
hanyálmirigy- lipáz) specifikus aktivitását és bioaktívok erre gyakorolt moduláló hatását.

A mérésem alapját képezi az INFOGEST-ből Grundy és mtsai. 2021 által implementált pH stat  
vizsgálati protokoll. A módszerfejlesztés során fontos paraméterek meghatározását is  
elvégeztem, majd annak érdekében, hogy egy megbízható, reprodukálható, pontos és precíz  
mérési módszert hozzak létre. Összevetem több beállított enzimkoncentráció egymáshoz  
viszonyított viselkedését és meghatározom az adott enzim abszolút aktivitását.

Emellett a módszert felhasználva vizsgálom enzim gátlási reakciókat öt különálló bioaktív  
kivonat (tannin kivonatok: nagy gallotannin, ellagitannin, vagy kondenzált tannin tartalommal,  
és almatörköly vizes és acetonos kivonatok) felhasználásával. Emellett az eredeti módszerben  
leírtaktól eltérően, amik az enzimek optimális körülményeit veszik alapul, a valós élettani  
emésztés körülményeit jobban közelítve is végeztem méréseket.

A felhasznált módszer a pH stat, egy könnyen kivitelezhető, viszonylag olcsó statikus eljárás,  
ami titrimetrián alapul. A módszer segítségével közvetve kapok választ az enzimaktivitás  
időbeli alakulására. A műszer az enzimes katalízis során tributirin szubsztrátból keletkező  
zsírsavakat titrálja NaOH mérőoldat, úgy, hogy közben folyamatosan monitorozza a pH-t és  
egy előre beállított értéken stagnáltatja. A mérés beállított időtartama lejártával abbahagyja a  
műveletet és a kijelzi a mérőoldat fogyását meghatározott időközönként. Ezen fogyás  
értékekből következtetek vissza az enzim specifikus aktivitására.

A mérések eredményei alapján a tanninkivonatok kisebb koncentrációi nem mutattak szignifikáns gátlást a hasnyálmirigy-enzimre, sőt bizonyos esetekben az enzimaktivitás növekedését eredményezték. A gátlás ebben az esetben eltolódott, először megemelkedett a specifikus enzimaktivitás és utána egy csökkenő tendencia volt megfigyelhető nagyobb gátló anyag koncentráció hatására.

A módosított körülményeken végzett mérés más eredményt hozott, itt nem emelkedett az aktivitás a referenciához képest, mert a reakcióközeg pH-ja jelentősen befolyásolja a tannin-enzim kölcsönhatás minőségét.

A gyomor-lipázzal klasszikus gátlás volt tapasztalható, azonban módosított pH értéken kimutatási határ alatt voltak az enzimaktivitások.

Az almatörköly kivonat nem volt hatással az enzimreakcióra.