

Abstrakt

Glukosinoláty jsou sekundární produkty rostlin, které jsou hydrolyzovány enzymem myrosinase, za vzniku toxických produktů, jako jsou například isothiokyanatany. Tyto produkty degradace se podílejí na obraně rostliny proti vnějším patogenům.

Tato bakalářská práce se zabývá sledováním enzymové aktivity myrosinasy pomocí kapilární elektroforézy. Jako substrát enzymové reakce byl zvolen 3-indolylmethylglukosinolat známý pod triviálním názvem glukobrassicin. V rámci experimentů byla vyzkoušena enzymová reakce jak v off-line, tak i on-line uspořádání kapilární elektroforézy. Jako základní elektrolyt byl použit roztok obsahující 9 mM tetraboritan sodný, 15 mM kyselinu fosforečnou a 10 mM hexadecyltrimethylammonium chlorid (pH = 7,02). Vzorek byl dávkován hydrodynamicky tlakem (5 kPa, 3 s). Na kapiláru bylo vkládané napětí -20 kV a roztok v kapiláře byl zároveň mobilizován tlakem 5 kPa. Optimalizovaná metoda byla vyhodnocena změřením kalibrační závislosti, meze detekce, meze stanovitelnosti, opakovatelnosti měření pro dávkování glukobrassicinu v off-line i on-line uspořádání a opakovatelnosti on-line enzymové reakce. Hodnota meze detekce byla stanovena na 0,011 mg ml⁻¹ a hodnota meze stanovitelnosti na 0,035 mg ml⁻¹. V off-line i on-line uspořádání byly relativní směrodatné odchylky pro plochy píků menší než 4 % a pro migrační čas menší než 1,5 %. Pro enzymové reakce v on-line uspořádání byla relativní směrodatná odchylka pro plochu píku glukobrassicinu 0,76 % a pro migrační čas 0,54 %.

Klíčová slova

Myrosinasa, glukobrassicin, kapilární elektroforéza, enzymová aktivita