

[Akceptuje](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)
[Kontakt](#)



[Laboratoria](#)
[.net](#)
[Innowacje](#)
[Nauka](#)
[Technologie](#)

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

zapisz się



- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Artykuły](#)

Oksydoretuktazy: peroksydaza i katalaza cz.I



Oksydoretuktazy są enzymami, które katalizują

reakcje utleniania i redukcji. Wśród tej klasy enzymów wyróżnia się m.in. hydroperoksydazy (peroksydazy i katalazy). Peroksydazy katalizują reakcje utleniania nadtlenku wodoru (H_2O_2) różnych substratów, zaś katalazy rozkładają powstały nadtlenek wodoru. Peroksydazy zaliczane są do enzymów, które wykorzystują nadtlenek wodoru oraz inne nadtlenki organiczne jako substraty reakcji. Peroksydaza chroni organizm przed szkodliwym działaniem nadtlenków, ponieważ ich gromadzenie się może prowadzić do powstawania tzw. wolnych rodników, które następnie mogą uszkadzać błony komórkowe, a dodatkowo mogą być jednym z czynników przyczyniających się do rozwoju miażdżycy i nowotworów [3].

Peroksydazy nie są tylko enzymami roślinnymi, znajdują się także w mleku, leukocytach czy płytkach krwi. W erytrocytach i innych tkankach występuje tzw. peroksydaza glutationowa. Jej grupą prostetyczną jest selen, a działanie polega na katalizowaniu w obecności zredukowanego glutationu rozkład nadtlenku wodoru i nadtlenków lipidów, dzięki czemu zapobiegane jest utlenianie lipidów błonowych i hemoglobiny przez nadtlenki. Peroksydaza glutationowa zaliczana jest do naturalnych przeciwutleniaczy. Występuje ona w wielu tkankach, a oprócz nadtlenku wodoru, działa ona również na nadtlenki organiczne. Wraz z witaminą E peroksydaza glutationowa jest częścią układu ochronnego przeciw peroksydacji lipidów [3]. Peroksydaza jest enzymem mało wrażliwym na wysoką temperaturę, co ciekawe jeszcze w temperaturze $100^\circ C$ częściowo zachowuje swoją aktywność [4].

Z kolei, katalaza wykorzystuje nadtlenek wodoru zarówno jako donor jak i akceptor elektronów. Enzym ten jest hemoproteiną, która w swej cząsteczce zawiera 4 grupy hemowe. Katalaza wykazuje aktywność peroksydazową, a dodatkowo może katalizować reakcje , gdzie jedna cząsteczka nadtlenku wodoru jest substratem oddającym elektrony, a druga cząsteczka H_2O_2 jest utleniaczem (akceptor elektronów). W warunkach *in vivo* katalaza wykazuje aktywność peroksydazową. Obecność katalazy stwierdzono we krwi, szpiku kostnym, błonach śluzowych, nerkach i wątrobie [3]. Obecność niewielkich ilości katalazy wykazano w mitochondriach oraz retikulum endoplazmatycznym [6]. Ponadto, enzym ten występuje u niektórych bakterii. W komórkach drożdżowych (*S. cerevisiae*) i *E.coli* stwierdzono dwa typy katalazy: katalazę typu A (atypowa, peroksymalna) oraz katalazę typu T (katalaza typowa, cytoplazmatyczna) [6].

W przeprowadzonych przez Gudelj M. i wsp. (2001) badaniach, wykorzystano nowy szczep *Bacillus sp.*, który otrzymano z odpływu ścieków i zidentyfikowano jako *Bacillus SF*. Wyizolowany z tego szczepu kompleks katalaza-peroksydaza, charakteryzuje się dużą stabilnością pH oraz odpornością cieplną. CP z bakterii oczyszczano z wykorzystaniem frakcjonowanego wytrącania siarczanem amonu i rozdzielaniu chromatograficznego.

Oczyszczanie CP (katalazy-peroksydazy) z komórki *Bacillus sp.* (*Bacillus SF*) (procedura wg Gudelj M. i wsp., 2001).

1. Komórki bakteryjne hodowano w $60^\circ C$ z wytrząsaniem (160 rpm) w standardowej pożywce (buforowanej 50 mM $NaHCO_3/Na_2CO_3$ w pH=10). Wzrost komórek monitorowano z użyciem mikroskopu, po upływie 2-dniowej inkubacji komórki (1ml) przeniesiono do świeżego medium. Następnie, zebrano je na koniec wykładniczej fazy wzrostu, zwirowano przy 3000 x g przez 15 min, a otrzymany po wirowaniu osad zawieszono w buforze fosforanowym (50 mM, o pH 7,0). Komórki rozbijano za pomocą ultradźwięków, a postęp rozbijania monitorowano pod mikroskopem. Pozostałości komórkowe usuwano przez odwirowanie (przy 6500x g, 20 min), a otrzymany supernatant zastosowano do oczyszczania CP. Lizat komórkowy poddano frakcjonowaniu poprzez wytrącanie siarczanem amonu o 40% nasyceniu- w celu usunięcia zanieczyszczeń, a następnie w drugim etapie zastosowano siarczan o 70%-nasyceniu w celu wytrącenia CP. Wytrącone białko

zbierano za pomocą wirowania, po czym osad rozpuszczono się w buforze fosforanowym (50 mM, o pH 7,0) z 1,0 M roztworem $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Otrzymany roztwór białka naniesiono na kolumnę (Phenyl Sepharose High Performance Column) zrównoważoną 1,0 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ w buforze fosforanowym (jak opisano wcześniej).

2. Frakcje zawierające białko eluowano liniowym gradientem 1.0 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Następnie, aktywne frakcje katalazy połączono razem i wprowadzono do kolumny Q6 UNO (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) zrównoważonej buforem fosforanowym (50 mM, pH 7,0). Po adsorpcji, białka wmywano liniowym gradientem 0,1M NaCl w tym samym buforze; katalazę eluowano 0,25M NaCl. Aktywne frakcje połączono, zateżono w komorze do ultrafiltracji (Sartorius, Epsom, UK, używając membrany o 100kDa limicie) i przeniesiono na kolumnę (Pharmacia) wcześniej zrównoważoną w buforze fosforanowym (50 mM, o pH=7.0) zawierającym 0,15M NaCl. Zebrano aktywne frakcje enzymu, po czym przechowywano je w temperaturze -20°C , aż do czasu użycia [7].

Charakterystyka białka-elektroforeza

Otrzymane białko rozdzielono w żelu poliakrylamidowym za pomocą elektroforezy SDS-PAGE (z siarczanem dodecyłu-sodu). Rozdział prowadzono w 12% żelach, z wykorzystaniem odpowiedniego markera masy cząsteczkowej. Białka na żelu barwiono barwnikiem Coomassie Brilliant Blue. Elektroforezę natywną PAGE przeprowadzono w 10% żelu poliakrylamidowym, który barwiono na aktywność katalazy za pomocą 0,001% nadtlenku wodoru (metoda opisana przez Harris i Hipkinson, 1976). Aktywność peroksydazy określono zgodnie ze zmodyfikowaną metodą Graham i wsp. (1964), przy użyciu gwajakolu lub o-dianizydyny jako substratu reakcji [7].

W przeprowadzonym doświadczeniu *Gudelj M. i wsp., 2001*), aktywność katalazy mierzono spektrofotometrycznie. Mieszanina testowa zawierała 100 μl preparatu enzymu i 900 μl buforu fosforanowego (50 mM o pH=7). Reakcję zapoczątkowano przez dodanie 1,000 μl 26 mM H_2O_2 , po czym monitorowano spadek absorbancji przy 240 nm w temperaturze pokojowej. Liniowy zakres reakcji (30 sekund) użyto do obliczenia stopnia reakcji [7].

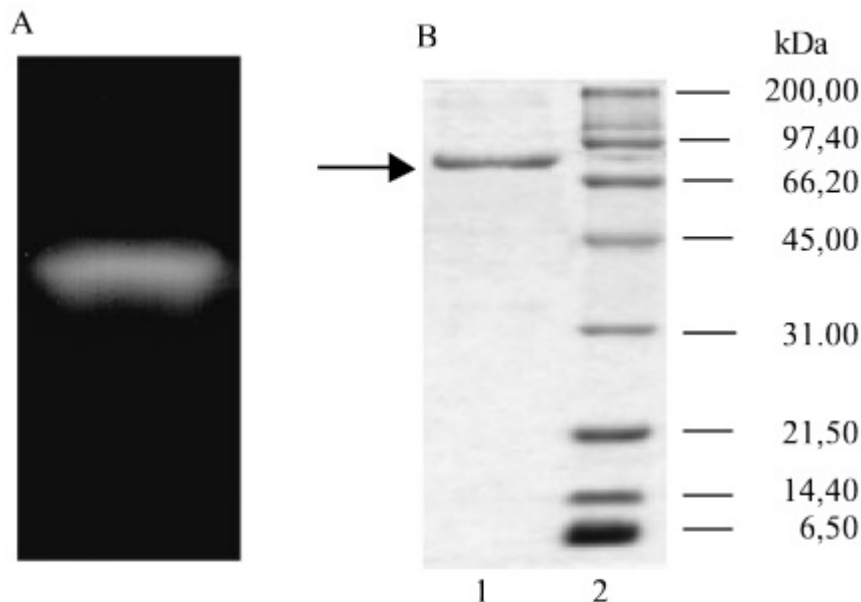


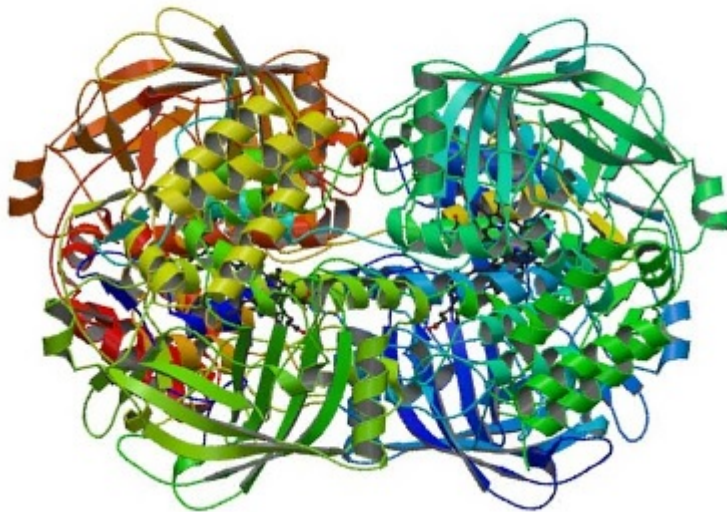
Fig. 1A,B. Native and sodium dodecyl sulfate (SDS) polyacrylamide gel electrophoresis of the purified catalase-peroxidase (CP) from *Bacillus SF*. **A** Native 10% polyacrylamide gel stained for catalase activity according to Harris and Hopkinson (1976). **B** Denaturing SDS 12% polyacrylamide gel stained for protein with Coomassie brilliant blue. *Lane 1*, purified CP; *lane 2*, Pharmacia molecular mass standard. *Arrow* indicates application of the catalase

Zdjęcie: Rozdział elektroforetyczny oczyszczonej CP, [7].
http://www.mbio.ncsu.edu/mjc/old/20062007/Jae_paper.pdf

Katalaza jest tetramerem hemoproteinowym o masie cząsteczkowej równej 240 kDa. Kodowana jest przez gen jądrowy. Obecnie znane są 3 formy izoenzymatyczne katalazy: CAT-1, CAT-2 oraz CAT-3. Formy CAT-1 i CAT-2 występują w miejscu obfitego występowania nadtlenu wodoru, a więc: w peroksysomach, glioksysomach, cytozolu- gdzie uniemożliwiają jego dalsze rozprzestrzenianie. Forma CAT-3 występuje w mitochondriach oraz cytozolu. Enzym ten przeprowadza tzw. dysmutację nadtlenu wodoru (w wyniku czego tlen z nadtlenu wodoru zmienia stopień utlenienia) [5].W strukturze katalazy występuje hem- każda z podjednostek enzymu ma układ hemowy, gdzie w centralnym położeniu znajduje się atom żelaza (Fe^{3+}).

Dzięki zastosowaniu nowoczesnych technik molekularnych, w latach 80-tych XX wieku udało się poznać budowę oraz lokalizację ludzkiego genu kodującego katalazę. I tak, gen ten umiejscowiony jest na chromosomie 11 (ramię 13), składa się on z 13 eksonów, rozdzielonych między sobą za pomocą 12 intronów. Ogólną długość całego genu szacuje się na ok. 34 kpb, gdzie region kodujący stanowi 1581 pb [6].

Catalase



Zdjęcie: Częsteczka katalazy, źródło: http://openwetware.org/wiki/Biomod/2012/Titech/Nano-Jugglers/Methods/Varification_catalase

Peroksydaza oraz katalaza są enzymami, które odgrywają bardzo ważną rolę w procesach regulacji wzrostu i rozwoju roślin. Przeprowadzone badania pozwoliły na określenie roli peroksydazy we wzroście i rozwoju roślin. I tak, stwierdzono, że peroksydaza bierze udział w syntezie lignin (Macur in., 1991) i utlenianiu kwasu indoliloctowego (IAA). Katalaza, z kolei odpowiada za rozkład nadtlenu wodoru, dzięki czemu enzym ten pełni rolę ochronną w roślinach. Podczas, gdy peroksydaza utlenia kwas IAA z wykorzystaniem nadtlenu wodoru, katalaza go rozkłada, tak więc enzymy te współgrają ze sobą. Zarówno peroksydaza jak i katalaza należą do pierwszej linii obronnej tzn. ich aktywność bardzo szybko wzrasta np. gdy występuje reakcja roślin na pojawienie się jakiegoś patogenu bądź w przypadku zadziałania określonego czynnika stresogennego [1]. Działanie katalazy i jej enzymatyczną funkcję po raz pierwszy określił Jacobson, Bourquelot i Loew, kiedy to stwierdzili, że katalaza powoduje rozkład nadtlenu wodoru na tlen i wodę [2].

Ogólnie peroksydazy (POX) można podzielić na dwie grupy:

1. Grupa pierwsza stanowi peroksydazy mające znaczenie fizjologiczne (zaliczane są do enzymów, które wykazują kluczowe znaczenie w różnicowaniu i rozwoju komórek roślinnych). Enzymy pierwszej grupy biorą udział w takich procesach jak: opadanie liści i owoców, starzenie się, tolerancja na zimno, dojrzewanie owoców, kiełkowanie czy reakcje przeciw patogenom.
2. Do drugiej grupy wliczane są enzymy, które uczestniczą w unieczynnianiu reaktywnych form tlenu (RFT), są to: peroksydaza glutationowa, gwajakolowa, czy askorbinianowa [5].

Katalaza jako marker

Obniżona aktywność katalazy obserwowana jest w trakcie wystąpienia wielu chorób, w tym m.in. zapaleniu płuc, gruźlicy, miażdżycy, cukrzycy. Ponadto, zjawisko to obserwuje się w trakcie wystąpienia chorób neurodegeneracyjnych (np. choroby Parkinsona czy Alzheimerera). Przeprowadzone badania ujawniły, że w przypadku pojawienia się chorób, które poprzedzone są wystąpieniem stanów zapalnych, wzrasta aktywność katalazy w osoczu krwi. Małą aktywność

katalazy we krwi obserwuje się przy miażdżycy i cukrzycy, co wskazuje na występowanie długotrwałego stresu oksydacyjnego w komórkach. Wykazano, że nadtlenek wodoru uszkodza komórki białaczki, co przy niedoborze katalazy prowadzi do rozwoju cukrzycy. Wyraźne obniżenie aktywności obserwowano w wielu typach nowotworów np. głowy i szyi, płuc, przewodu pokarmowego, piersi, nerek czy w przypadku wystąpienia białaczki. Brak lub niedobór katalazy we krwi i innych tkankach organizmu, prowadzi do powstawania tzw. akatalasemii i hipokatalasemii. Brak katalazy (akatalasemia) lub jej niedobór (hipokatalasemia) objawiają się m.in. owrzodzeniem jamy ustnej, a zmiany te prowadzą u chorych do utraty zębów [6].

Peroksydazy należą do szeroko rozpowszechnionych enzymów. Spotyka się je zarówno w tkankach zwierzęcych jak i roślinnych, a nawet w bakteriach. Szeroka specyficzność enzymów, ich wielorakie właściwości, a także dostępność z różnych źródeł powodują, że enzymy te znalazły zastosowanie w biologicznych i biochemicznych procesach. Z tego punktu widzenia najczęściej badanym i stosowanym enzymem jest peroksydaza chrzanowa (HRP). Do wykrywania aktywności peroksydazy wykorzystywane są metody kolorymetryczne, elektrochemiczne i chemiluminescencyjne. Klasyczne metody kolorymetryczne oparte są na monitorowaniu tworzenia barwnego produktu z bezbarwnego akceptora tlenu. Związki te obejmują benzydinę, o-dianizydinę i wiele innych. Metoda chemiluminescencyjna oparta jest na reakcji utleniania diacylohydrazydów, czemu towarzyszy emisja światła. Jednym z najbardziej zrozumiałych systemów jest HRP/nadtlenek wodoru -utlenianie z luminolem w warunkach alkalicznych [8].

Znane są dwa typy przemian prowadzące do powstania chemicznie indukowanej emisji światła. Rodniki lub rodnikojony (np. produkty elektrolizy soli organicznych) mogą rekombinować na powierzchni elektrod, co w ostateczności prowadzi do emisji światła. Zjawisko to określa się mianem elektrochemiluminescencji (ECL). Drugim typem przemian są reakcje utleniania, kiedy to cząsteczki reagują z tlenem cząsteczkowym lub z nadtlenkami. Reakcje te zachodzą zazwyczaj w obecności katalizatorów - enzymów. Wynikiem tego typu reakcji tworzą się produkty będące w stanie wzbudzone i uwalniane są małe molekuly. Bardzo znanym przykładem jest wspomniane powyżej utlenianie luminolu (w środowisku zasadowym) [9].

Peroksydaza askorbinianowa występuje w chloroplastach i cytozolu. Uważa się, że ten rodzaj peroksydazy wraz z katalazą odpowiedzialne są za ochronę komórek roślinnych przed szkodliwym działaniem nadtlenu wodoru oraz innych nadtlenków organicznych. U roślin wyższych peroksydazy występują w postaci kilku izoform, a jedną z nich jest właśnie peroksydaza askorbinianowa (APX). W chloroplastach enzym ten odpowiedzialny jest za usuwanie nadtlenu wodoru, który tam powstaje [10].

Peroksydaza askorbinianowa - oznaczenie [11].

Opisana poniżej metoda stosowana jest do pomiaru spadku absorbancji przy $\lambda=290$ nm lub $\lambda=265$ nm w wyniku utleniania askorbinianu do dehydroaskorbinianu.

Materiał do badań: jako materiał do przeprowadzenia oznaczenia należy użyć liście fasoli lub pomidora

Wykonanie:

Do 1 g zhomogenizowanego materiału roślinnego należy dodać 10 ml 0,1M buforu fosforanowego (o pH=6.0) z PVP, EDTA i askorbinianem sodowym (tj. 0,1M bufor sodowofosforanowy o pH=6, 1%

PVP(poliwinylopirolidon), 0,1M EDTA, 0,2 mM askorbinian sodowy). Tak przygotowaną próbkę wytrząsać przez ok. 10 minut, po czym odwirować. Następnie, do próbki wprowadzić 1,8 ml 0,1M buforu fosforanowego (o pH=6.0), 100 µl ekstraktu enzymatycznego oraz 20 µl 5mM roztworu askorbinianu sodowego (przygotowany na świeżo przed użyciem) oraz 100µl 1mM roztworu nadtlenu wodoru (H₂O₂). Próbkę inkubować w temperaturze 30°C [11].

Aktywność oznacza się na podstawie pomiaru spadku absorbancji między pierwszą i piątą minutą po starcie reakcji, przy $\lambda = 290$ nm na spektrofotometrze z komorą termostatową. Oznaczenie można również wykonać przy $\lambda = 265$ nm- w przypadku, gdy próba kontrolna wykazuje dużą absorbancję. Równoległe do pomiaru wykonuje się oznaczenie próby kontrolnej, która w swoim składzie zamiast nadtlenu wodoru zawiera wodę. Z otrzymanych wyników oblicza się aktywność, wykorzystując w obliczeniach milimolowe współczynniki absorpcji:

$m e_{260} = 2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ albo $m e_{265} = 13,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [11].

Częściowe oczyszczanie surowego ekstraktu enzymu przeprowadzono przez wytrącenie siarczanem amonu, a następnie zastosowano chromatografię jonowymienną. W trakcie doświadczenia zaobserwowano, że po częściowym oczyszczeniu aktywność enzymu zwiększyła się w porównaniu do surowego ekstraktu enzymu. Muhammad Anjum Zia i wsp. (2011) opisali kilkietapową metodę ekstrakcji i oczyszczania peroksydazy wraz z inaktywacją pozostałości katalazy i pomiarem aktywności enzymu [12].

Ekstrakcja enzymu (wg Muhammad Anjum Zia i wsp., 2011).

Peroksydazę ekstrahowano z nasion jabłek i pomarańczy z wykorzystaniem metody opisanej przez Geng i wsp. (2001) z niewielkimi modyfikacjami. Nasiona zostały oddzielone od suszu, po czym moczone je w 200 ml 0,1M buforze fosforanowym o pH=6.0 przez noc i dokładnie zhomogenizowano przez mieszanie w ciągu 15 -20 minut. Tak otrzymaną próbkę zwirowano 10 000 x g, w trakcie 15 minut, w celu usunięcia resztek komórkowych. Otrzymany po wirowaniu supernatant delikatnie usunięto z nad osadu i przesączono przez bibułę filtracyjną Whatman No 1 w celu uzyskania próbki enzymu o większej przejrzystości [12].

Obróbka termiczna (wg Muhammad Anjum Zia i wsp., 2011).

W celu selektywnej inaktywacji śladów katalazy, otrzymaną próbkę surowego ekstraktu enzymu ogrzewano w temperaturze 65°C przez 3 minuty w kąpeli wodnej, po czym próbkę gwałtownie schłodzono przenosząc ją na 30 minut na lód (Wang i in., 1999). Po termicznej inaktywacji, ekstrakt przetrzymywano w temperaturze 4°C aż do momentu użycia [12].

Pomiar aktywności enzymu i stężenia białka (wg Muhammad Anjum Zia i wsp., 2011).

Aktywność enzymu oznaczano za pomocą spektrofotometru UV-VIS przy długości fali równej $\lambda = 470$ nm, wg metody Rad i in. (2007) z niewielkimi modyfikacjami. Do pomiarów przygotowano mieszaninę pirokatechiny (170 mM) i aniliny (2,5 mM) w 0,2 M buforze fosforanowym (o pH 6,5). Do każdego blanku i pustej kuwety do pomiaru próbki odpipetowano po 500 µl powyższej mieszaniny oraz 500 µl nadtlenu wodoru (35%). Próbkę inkubowano w temperaturze 25°C przez 3 do 4 minut.

Następnie, odpowiednio do blanków (kontrola) oraz próbek dodano po 50 µl ekstraktu enzymatycznego oraz 50 µl buforu fosforanowego. Wzrost wartości absorbancji rejestrowano z 4 do 5 minutowymi przerwami. Białko w próbce oznaczano metodą Lowry i in. (1951), gdzie stosuje się albuminę surowicy bydlęcej jako standard [12].

Częściowe oczyszczanie i dializa peroksydazy [12].

Do ekstraktu enzymatycznego dodano siarczanu amonu, aż o 50% nasycenia, po czym próbkę przechowywano przez 4 do 6 godzin w temperaturze 4° C. Wytrącony w tym czasie osad zebrano przez odwirowanie próbki przy 10 000 x g przez 15 minut, w temperaturze 4° C. Otrzymany po wirowaniu osad (wytrąconych białek) odrzucono. Do supernatantu dodawano ponownie siarczan amonu, do osiągnięcia 85% nasycenia w temperaturze 0° C. Próbkę ponownie inkubowano przez 4 do 6 godzin w temperaturze 4° C, po czym zwirowano jak wyżej. Po wirowaniu, oddzielono nadsącz, a otrzymany osad rozpuszczono w małej ilości buforu, w którym ekstrahowano enzym. Roztwór przeniesiono do worka dializacyjnego i dializowano wobec wody destylowanej przez kilka godzin zmieniając 4 razy wodę po upływie każdych 6 godzin [12].

Badania przeprowadzone przez Muhammad Anjum Zia i wsp. (2011) wykazały, że ekstrakt peroksydazy otrzymany z nasion pomarańczy wykazuje większą aktywność peroksydazy niż w przypadku ekstraktu z nasion jabłek. Dzięki temu też stwierdzono, że nasiona pomarańczy są bogatym źródłem peroksydazy w porównaniu do nasion jabłek. [12].

Autor: Lidia Koperwas

Literatura:

[1]. Mioduszevska H., 2001. Wpływ nawożenia azotem na aktywność peroksydazy i katalazy w bulwach ziemniaka odmiany Uran. NR 220 BIULETYN INSTYTUTU HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN 2001

[2]. http://www.ib-pan.krakow.pl/pubs-pdf/Wiadomosci%20Botaniczne/1963/7_a39-51.pdf

[3]. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W., 1995. **BIOCHEMIA HARPERA**, Wydanie III, Redaktor naukowy tłumaczenia Franciszek Kokot. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, s. 143/Utlenianie Biologiczne

[4]. <http://www.e-biotechnologia.pl/Artykuly/oksydoreduktazy>

[5]. Małecka A., Tomaszewska B., 2005. Reaktywne formy tlenu w komórkach roślinnych i enzymatyczne systemy obronne. Postępy biologii Komórki, Tom 32, 2005 NR 2. <http://specinfo.linuxpl.info/pbk/sites/default/files/pdfpub/311malecka.pdf>

[6]. Ścibor D., Czeczot H., 2006. Katalaza- budowa, właściwości funkcje. Postępy Hig Med Dosw. (online), 2006; 60: 170-180

[7]. Gudelj M., Fruhwirth G.O., Paar A., Lottspeich F, Robra K.H., Cavaco-Paulo A., Gübitz G.M., 2001. A catalase-peroxidase from a newly isolated thermoalcaliphilic Bacillus sp. With potential for the treatment of textile bleaching effluents. ORIGINAL PAPER, Extremophiles (2001) 5:423-429 © Springer-Verlag 2001 Digital Object Identifier (DOI) 10.1007/s007920100218. http://www.mbio.ncsu.edu/mjc/old/20062007/Jae_paper.pdf

[8]. MACKOVA M. , FERRI E.N. ,DEMNEROVA K., MACEK T., 2001. QUANTITATIVE CHEMILUMINESCENT DETECTION OF PLANT PEROXIDASES USING A COMMERCIAL KIT ORIGINALLY DESIGNED FOR BLOTTING ASSAYS.Chem. Listy95, 130 -132 (2001) .

[9].

<http://www.chem.univ.gda.pl/kchfiz/assets/Uploads/kchfiz/files/LZCh/LZChcw3-CLrev10-2012.pdf>

[10]. http://www.biol.uw.edu.pl/zmfr/files/fizjologa_M1_skrypt.pdf

[11]. Ćwiczenia z biochemii pod redakcją L. Kłyszajko-Stefanowicz. Wydawnictwo Naukowe PWN, 2003, s.543-544.

[12]. Zia M.A., Kousar M., Ahmed I., Iqbal H.M.N., Abbas R.Z., 2011. Comparative study of peroxidase purification from apple and orange seeds. African Journal of Biotechnology Vol. 10(33), pp. 6300-6303, 6 July, 2011. Available online at <http://www.academicjournals.org/AJB> DOI: 10.5897/AJB10.2675 ISSN 1684-5315 © 2011 Academic Journals.

<http://laboratoria.net/artukul/20246.html>

Informacje dnia: [Jak poradzić sobie z końcem wakacji? Zalecenia w sprawie mpox są racjonalne i adekwatne](#) [Przydatność organów do przeszczepu](#) [Naukowcy zbadali, jak powstają nowe słowa w mediach społecznościowych](#) [Telefony komórkowe nie powodują nowotworów mózgu](#) [Ryzyko zawału i udaru mózgu u kobiet](#) [Jak poradzić sobie z końcem wakacji? Zalecenia w sprawie mpox są racjonalne i adekwatne](#) [Przydatność organów do przeszczepu](#) [Naukowcy zbadali, jak powstają nowe słowa w mediach społecznościowych](#) [Telefony komórkowe nie powodują nowotworów mózgu](#) [Ryzyko zawału i udaru mózgu u kobiet](#)

Partnerzy