หัวข้อการวิจัย การตรึงเอนไซม์สำหรับย่อยโปรตีนจากแกนสับปะรด

การวิจัย วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การสอนเคมี)
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2525

ชื่อผู้ทำ ศิวาพร อรรฐาเมศร์

บทคัดย่อ

สกัดเอนไซม์จากแกนสับปะรดโดยวิธี salt extraction ด้วย phosphate buffer pH 7.0 เมื่อแยกเกลือและสารโมเลกุลขนาดเล็กออกและทำให้แห้งแล้ว จะได้เอนไซม์มีลักษณะเป็นผงสีขาวอมเหลือง เล็กน้อยปริมาณ 0.53 % ของน้ำหนักแกน เอนไซม์นี้มี activity สูงขึ้นเป็น 1.4 เท่า ในการตรวจความบริสุทธิ์ของเอนไซม์ด้วย polyacrylamide disc gel electrophoresis และ gel filtration ด้วย Sephadex G 100 พบโปรตีนอย่างน้อย 2 ชนิด เมื่อนำมาตรึงบน DEAE-Sephadex A-50 ที่ pH 5.4-8.5 พบว่า optimum pH ของการตรึงคือ 7.0 และปริมาณที่เหมาะสมในการตรึงที่ pH 7.0 ระหว่างเอนไซม์และ DEAE-Sephadex A-50 คือ 25 mg ของเอนไซม์ในสารละลาย 5 cm^3 ต่อ 1 กรัมของ Wet DEAE-Sephadex A-50 จากการศึกษาผลของ pH ต่อ activity ของเอนไซม์ตรึงเปรียบเทียบกับเอนไซม์ก่อนตรึง จะได้ optimum pH ของเอนไซม์ตรึงไม่สูงกว่า 4 และของเอนไซม์ก่อนตรึงเท่ากับ 6.6 และ pH activity profile ของเอนไซม์ตรึงเลื่อนไปทางกรด เมื่อเทียบกับเอนไซม์ก่อนตรึง ในการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อ activity ของเอนไซม์พบว่า optimum temperature ของเอนไซม์ตรึงคือ 70 °C ของเอนไซม์ก่อนตรึงคือ 60 °C แต่ Temperature activity profile ของเอนไซม์ทั้งสองเกือบซ้อนทับเป็นอันเดียว ที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 °C activity ของทั้งเอนไซม์และเอนไซม์ตรึงจะลดลงอย่างรวดเร็ว การตรึงเอนไซม์โดยวิธีนี้จึงไม่มีผลช่วยให้เอนไซม์เสถียรต่อความร้อนเพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Title Immobilization of Proteolytic Enzyme from Pineapple Stem

Research Master of Science (Teaching Chemistry)
Chiang Mai University 1982

Name Siwaporn Utdhamesara

Abstract

Crude proteolytic enzyme was extracted from pineapple stem with phosphate buffer pH 7.0. After desalting and drying, pale yellow powder was obtained in approximately 0.53 % by weight of the pineapple stem used. Catalytic activity of desalted enzyme was increased by 1.4 fold. Disc gel electrophoresis and gel filtration with Sephadex G-100 indicated that the preparation contained two kinds of proteins at least. Immobilization of the enzyme with DEAE-Sephadex A-50 at pH 5.4-8.5 gave maximum binding at pH 7.0. Maximum binding capacity was obtained between five cubic centimeters of the enzyme solution at concentration of 5 mg/cm^3 and one gram of wet DEAE-Sephadex A-50. Optimum pH of the soluble enzyme was found to be 6.6, whereas that of the immobilized enzyme was not higher than 4.0 and the pH activity profile of the immobilized enzyme was shifted to the acid side. The optimum temperature of the soluble enzyme was found to be 60°C and that of the immobilized enzyme was 70°C. The temperature activity profile of both enzyme preparations nearly

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

coincided with each other. At temperatures above 70°C, activities of the original enzyme and of the immobilized enzyme were quickly diminished. Thus, immobilization of proteolytic enzymes of the pineapple stem by this method offered no protective value from heat denaturation.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved