ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การตรึงเอ็นไซม์โบรมีเลน และการศึกษาลักษณะเฉพาะของเอ็นไซม์ตรึง

ชื่อผู้เขียน นางพาณี ศิริสะอาด

วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2528

บทคัดย่อ

ได้ทำการตรึงโบรมีเลน ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ย่อยโปรตีนจากแกนสับปะรดกับแคริเออร์ ด้วยพันธะ 2 แบบ คือ พันธะอิออนนิค โดยใช้ CM-Sephadex C-50 และพันธะโควาเลนท์ โดยใช้ Amino-Sepharose 4B และ Aminopropyl glass พบว่าได้ % Binding เป็น 52.20 และ % Activity yield เป็น 53.62 และเมื่อใช้เอ็นไซม์ 0.2 กรัม ตรึงกับ wet แคริเออร์ 4 กรัม จะให้ binding capacity สูงสุด ส่วน Amino-Sepharose 4B-Enzyme ให้ % Binding เป็น 30.27 และ % Activity yield เป็น 68.24 และเมื่อใช้เอ็นไซม์ 0.4 กรัม ตรึงกับ wet แคริเออร์ 4 กรัม ให้ binding capacity สูงสุด ทั้ง 2 กรณี ทำการตรึงในปริมาตรของสารละลายทั้งหมดเป็น 20 มล. ส่วนการตรึงโบรมีเลน กับ Aminopropyl glass ให้ % Binding เป็น 38.23 แต่ activity yield ต่ำมาก คือ 8.9%

ในการศึกษา kinetics ของการเร่งปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ โดยใช้เคซีนเป็นสับสเตรท พบว่าสารละลายเอ็นไซม์และเอ็นไซม์ตรึงในรูปแบบทั้งสอง เร่งปฏิกิริยาโดยมีอัตราเร็วคงที่ในช่วง 10 นาทีแรก หลังจากนั้น อัตราเร็วจะลดลง optimum

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

pH ของสารละลายเอ็นไซม์ เป็น 6.0 ของ CM-Sephadex C-50-Enzyme เป็น 5.6 และของ Amino-Sepharose 4B-Enzyme เป็น 7.4 optimum temperature สำหรับการเร่งปฏิกิริยาโดยสารละลายเอ็นไซม์เป็น 60 °ซ ของ CM-Sephadex C-50-Enzyme และ Amino-Sepharose 4B-Enzyme เป็น 70 °ซ สารละลายเอ็นไซม์เร่งปฏิกิริยาโดยมีค่า Km เป็น 0.02 μmole/ml ของ CM-Sephadex C-50-Enzyme เป็น 0.10 μmole/ml และของ Amino-Sepharose 4B-Enzyme เป็น 0.14 μmole/ml อัตราเร็วสูงสุดของการเร่งปฏิกิริยาโดยสารละลายเอ็นไซม์ CM-Sephadex C-50-Enzyme และ Amino-Sepharose 4B-Enzyme มีค่าเป็น 0.0067 μmole/min , 0.0040 μmole/min และ 0.005 μmole/min ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Immobilization of Bromelain and Characterization of the Enzyme Complex

Name Mrs. Panee Sirisaard

Thesis For Master of Science in Chemistry
Chiang Mai University 1985

Abstract

Bromelain, a proteolytic enzyme from Pineapple stem, was immobilized by two different methods, namely, ionic binding with CM-Sephadex C-50 and covalent binding with Amino-Sepharose 4B and Aminopropyl glass. It was found that CM-Sephadex C-50-Enzyme gave % Binding and % Activity yield of 52.20 and 53.20 repectively whereas those of Amino-Sepharose 4B-Enzyme were 30.27 and 68.24 respectively. In the case of CM-Sephadex C-50-Enzyme maximum binding capacity was obtained when 0.2 g of soluble enzyme was used to immobilize on 4 g. of wet carrier and in the case of Amino-Sepharose 4B-Enzyme, 0.4 g. of the soluble enzyme immobilized on 4 g. of wet carrier gave the maximum binding capacity. Comparable percentage of binding was obtained with Aminopropyl glass-Enzyme but the percentage of activity yield was too low to be of any advantage.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Kinetics study of the reaction catalyzed by the soluble enzyme, CM-Sephadex C-50-Enzyme and Amino-Sepharose 4B-Enzyme indicated that rate of the reaction was steady over the first ten minutes then gradually declined. Optimum pH for catalysis by the soluble enzyme was found to be 6.0, where as that of the CM-Sephadex C-50-Enzyme and Amino-Sepharose 4B-Enzyme were 5.6 and 7.4 respectively. Optimum temperature of the reaction catalyzed by soluble enzyme was 60°C and those of CM-Sephadex C-50-Enzyme and Amino-Sepharose 4B-Enzyme were 70°C. Determination of Km gave the values of 0.02 μmole/ml. for the soluble enzyme, 0.10 μmole/ml for CM-Sephadex C-50-Enzyme and 0.14 μmole/ml. for Amino-Sepharese 4B-Enzyme, and the maximum velocities of the reaction were 0.0067 μmole/min, 0.0040 μmole/min and 0.005 μmole/min. respectively.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved