

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาการผลิตโบรโมเปอร้ออกซิเดสจากสาหร่าย สีแดง <i>Polycarvermosa</i> sp.
หน่วยกิตของวิทยานิพนธ์	12 หน่วย
โดย	นายสยามพงษ์ พงษ์คำ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร ผศ. ดร. กนก รัตนะกนกชัย
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2541

#### บทคัดย่อ

ศึกษาการสกัดโบรโมเปอร้ออกซิเดสจากสาหร่ายสีแดง *Polycarvermosa* sp. โดยการบดด้วยเครื่องบดร่วมกับการใช้ดีเทอร์เจนท์ (ได้แก่ Triton X-100 และ sodium deoxycholate), การบดร่วมกับวิธี freeze and thaw, การบดร่วมกับการใช้คลื่นเสียง และศึกษาผลของการกวนต่อการแพร่ของโบรโมเปอร้ออกซิเดสออกจากเมมเบรนหลังการบดเซลล์ พบว่าการกวนนาน 6 ชั่วโมงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้สูงสุด โดยเพิ่ม specific activity ของโบรโมเปอร้ออกซิเดสใน crude enzyme 57.54% เมื่อเปรียบเทียบกับ crude enzyme ที่ได้จากการบดเซลล์ เมื่อทำให้เอนไซม์เข้มข้นขึ้นโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต เมธานอล เอทานอล และอะซีโตน พบว่าการตกตะกอนด้วยอะซีโตนให้โบรโมเปอร้ออกซิเดสปริมาณสูงที่สุด โดยมีค่า degree of purification เท่ากับ 4.21 ในการทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์โดย ion-exchange chromatography (DEAE-Sephadex และ DEAE-Toyopearl) พบว่า DEAE-Toyopearl มีประสิทธิภาพดีกว่า โดย partial purified enzyme มีค่า degree of purification เท่ากับ 7.24 ในการทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์โดย gel filtration chromatography (Biogel A-0.5 M และ Sephadex G-75) พบว่า Sephadex G-75 มีประสิทธิภาพดีกว่า โดยมี degree of purification เท่ากับ 14.42 เมื่อตรวจวัดปริมาณโปรตีน พบว่าใน crude enzyme มีโปรตีน 267 ไมโครยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่ partial purified enzyme จาก Sephadex G-75 มีปริมาณโปรตีน 0.002 ไมโครยูนิต/มิลลิลิตร การหาขนาดโมเลกุลโดย Sephadex G-75 พบว่าโบรโมเปอร้ออกซิเดสมีมวลโมเลกุลประมาณ 615,000 ดาลตัน เมื่อศึกษาผลของไอออนโลหะชนิดต่างๆ ต่อกิจกรรมของโบรโมเปอร้ออกซิเดส พบว่าวานาเดียมไอออน ( $V^{+5}$ ) สามารถเพิ่มกิจกรรมของโบรโมเปอร้ออกซิเดสที่ผ่านการล้างด้วยสารละลาย EDTA และ dialysis แล้ว โดยวานาเดียมไอออนที่

ความเข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์มีความเหมาะสมที่สุดต่อโบรโมเปอร์ออกซิเดสที่สกัดได้ โดยเพิ่มกิจกรรมของโบรโมเปอร์ออกซิเดส 50.98% เมื่อศึกษาคุณสมบัติของโบรโมเปอร์ออกซิเดส พบว่า partial purified enzyme มีความคงทนต่ออุณหภูมิสูงกว่า crude enzyme เมื่อศึกษาความคงทนต่อสภาวะความเป็นกรดและด่าง พบว่า crude enzyme คงทนต่อ pH 7 ได้ดีที่สุด และยังคงกิจกรรมของโบรโมเปอร์ออกซิเดสได้ดีที่ pH 4 และ 9 partial purified enzyme มีความคงทนที่ pH 6 ดีที่สุด และยังคงกิจกรรมของโบรโมเปอร์ออกซิเดสได้ดีที่ pH 4 และ 9 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของ crude และ partial purified enzymes คือ 55 องศาเซลเซียส และระดับความเป็นกรดและด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของ crude และ partial purified enzymes คือที่ pH 6 เมื่อศึกษาถึงสภาพความคงทนในการเก็บรักษา พบว่าเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส crude และ partial purified enzymes มีกิจกรรมของโบรโมเปอร์ออกซิเดสลดลง 47.50 % และ 26.07 % ตามลำดับ ขณะที่เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส crude และ partial purified enzymes มีกิจกรรมของโบรโมเปอร์ออกซิเดสลดลง 34.48 % และ 30.63 % ตามลำดับ ภายในเวลา 40 วัน

คำสำคัญ (Keywords) : โบรโมเปอร์ออกซิเดส / *Polycarvernosa* sp. / สาหร่ายสีเขียว