200656

งานวิจัยนี้ศึกษาการตรึงเอมไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสด้วยวิธีการห่อหุ้มในไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ เพื่อศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส ไคโตซาน และอนุภาคนาโนเงินต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูปในด้านความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา เสถียรภาพในการทำงานและการเก็บรักษา โดยในงานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็นสองส่วน งานวิจัยส่วนแรกศึกษาอิทธิพลของพีเอชของสารละลาย ไคโตซาน (4 , 5 และ 6) ขนาดของฟิล์มไคโตซาน (ตัดละเอียด 0.3 x 0.3 และ 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร) และความเข้มข้นของสารตั้งต้น (ไพโรแกลลอล 0.03 - 0.10 โมล่าร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.10 - 0.60 โมล่าร์) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ซึ่งทำให้ได้ค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะสูงสุด คือ พีเอชของสารละลายไคโตซานเท่ากับ 5 ขนาดของฟิล์มไคโตซาน 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร และความเข้มข้นของไพโรแกลลอล 0.075 โมล่าร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.50 โมล่าร์ จากข้อมูลในส่วนแรกนำมาใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการตรึงรูปเอนไซม์ในวัสดุประกอบแต่งไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีการเติมตัวรีดิวซ์มีขนาดเฉลี่ยเท่ากับ 37 นาโนเมตร ด้วยระเบียบวิธีการออกแบบการทดลอง โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเอนไซม์ (0.05 , 0.10 และ 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ความเข้มเข้มข้นของไคโตซาน(0.5 , 1.0 และ 1.5 % น้ำหนัก/ปริมาตร) และความเข้มข้นของอนุภาคเงิน (0.4×10^{-2} , 0.8×10^{-2} และ 1.2×10^{-2} นาโนโมล่าร์) พบว่า ค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะสูงที่สุด คือ 230 ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นของไคโตซาน 0.5 % น้ำหนัก/ปริมาตร และความเข้มข้นของอนุภาคนาโนเงิน 0.4×10^{-2} นาโนโมล่าร์ แต่อย่างไรก็ตามกลับพบว่า การนำกลับมาใช้ใหม่ และการเก็บรักษาเอนไซม์ตรึงรูปในวัสดุประกอบแต่งที่ภาวะเหมาะสมนี้มีเสถียรภาพที่ต่ำมาก โดยพบว่า มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่เพียง 21.38 % หลังจากนำกลับมาใช้ใหม่เป็นครั้งที่ 3 ครั้ง และมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่เพียง 4.68 % และ 6.44 % หลังจากเก็บรักษาไว้ 2 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ตามลำดับ

In this research, the immobilization of horseradish peroxidase into the chitosan incorporated silver nanoparticles with entrapment method was studied. The focus was given on the study of effects of horseradish peroxidase, chitosan, and silver nanoparticles concentrations on efficiency of immobilized enzyme based on reaction rate , maintenance and storage stability. In this study, the experiment was divided into two parts. First , the effect of pH of chitosan solution (4 , 5 and 6), size of chitosan film (delicately cut , 0.3 x 0.3 and 0.5 x 0.5 cm^2), and substrate concentrations (pyrogallol, 0.03 - 0.10 M and hydrogenperoxide, 0.10 - 0.60 M) were studied . The optimum conditions for enzyme activity were determined at pH 5 of chitosan solution, 0.5 x 0.5 cm^2 of chitosan film size, 0.075 M pyrogallol , and 0.50 M hydrogenperoxide . Data from the first part were further applied to investigate with experimental design for optimum conditions of enzyme immobilization in chitosan incorporated silver nanoparticles. The silver nanopartilces , synthesized using reducing agents, had average size of 37 nm. The concentrations of enzyme solution (0.05, 0.10, and 0.15 mg/ml), chitosan solution (0.5, 1.0, and 1.5% w/v), and silver nanoparticles (0.4 $x10^{-2}$, 0.8 $x10^{-2}$, and 1.2 $x10^{-2}$nM) were studied. The optimum conditions for enzyme reaction was found at 0.15 mg/ml of horseradish peroxidase, 0.5% w/v of chitosan , and 0.4 $x10^{-2}$ nM of silver nanoparticles with the specific activity of 230 U/mg-enzyme. However, maintenance and storage stability of immobilized enzyme under this optimum conditions was quite low. The residue activity of immobilized enzyme was 21.38 % after 3 cycles of operation. After storing the immobilized enzyme at 4 °C and room temperature for 2 weeks, the residue activity were determined at 4.68 % and 6.44 %, respectively.