ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ค่าความสามารถในการทำงานของเอนไซม์

(Chemanage et.al., 1978)

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ค่าความสามารถในการทำงานของเอนไซม์

(Chemanage et.al., 1978)

การหาค่าความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ในหน่วยกระดาษกรอง (Filter Paper Unit , FPU) ได้ดังนี้

อุปกรณ์

1. กระดาษกรอง เบอร์ 1 ขนาด 1×6 เซนติเมตร (50 มิลลิลิตร)
2. เครื่องอังน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
3. หลอดทดลองขนาดกลางชนิดมีฝาปิด
4. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
5. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมีและวิธีเตรียม

1. สารละลายโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 5
2. สารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก

วิธีวิเคราะห์

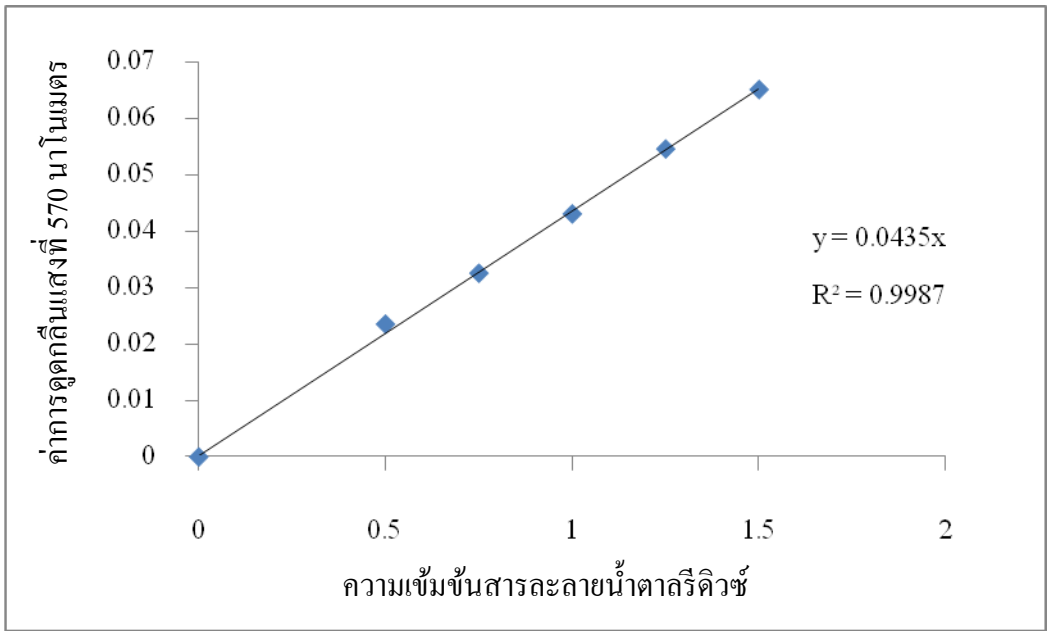
1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาด 1×6 cm พับใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็กหลอดละ 1 แผ่น
2. ปิเปตโซเดียมอะซีเตตบัปเฟอร์ pH 5 ปริมาณ 2 ml สำหรับ Blank สำหรับตัวอย่างปิเปตโซเดียมอะซีเตตบัปเฟอร์ pH 5 ปริมาณ 1 ml และปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 ml ปิดฝา
3. นำสารละลายที่เตรียมในข้อ 2. ต้มในน้ำอุณหภูมิ 50 ^{0}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือด 100 ^{0}C เป็นเวลา 5 นาที นำมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. นำสารละลายในข้อ 3. มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge เป็นเวลา 30 นาที ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm
5. เมื่อปั่นเหวี่ยงเสร็จแล้วนำสารละลายมาปิเปต 0.5 ml แล้วเติม DNS 5 ml ปิดฝา นำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็ง 5 นาที
6. นำมาวางที่อุณหภูมิห้องให้ฝาที่หลอดหมดแล้วจึงนำไปวัดค่า ABS ที่ความยาวคลื่นแสง 570 nm
7. นำข้อมูลจากข้อ 6. มาวิเคราะห์ผลโดยการคำนวณหาค่าเซลลูเลส แอคติวีตี้ จากสูตร

$$FPU\ (g/L) = ABS/Slope$$

8. การสร้างกราฟวิเคราะห์ผลโดยให้ค่าแกน y เป็นค่า FPU ที่คำนวณได้และแกน x เป็นเวลาที่ทำการหมัก

ตารางที่ ค.1 ค่าความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลมะพร้าวและค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลมะพร้าว (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร
0	0
0.5	0.024
1	0.033
1.5	0.043
2	0.055
2.5	0.065



รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูเลส แอคติวีตี้