

บทคัดย่อ

T167691

การผลิตเอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากผักบุ้งทะเลเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีฟีนอล พบว่า เอนไซม์หยาบที่สกัดโดยใช้น้ำปราศจากอิออนมีกิจกรรม 25.27 ยูนิต/มิลลิลิตร และมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 325.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทำปฏิกิริยาโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นร้อยละ 60 และทำปฏิกิริยาต่อด้วยเจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟี เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 1.58 และ 10.53 เท่า ตามลำดับ สามารถเก็บเกี่ยวเอนไซม์ได้ร้อยละ 69.18 และ 24.93 ตามลำดับ และพบว่าการทำปฏิกิริยาโดยวิธี Aqueous two-phase โดยใช้ระบบที่มีองค์ประกอบของโพลีเอทิลีนไกลคอล/แอมโมเนียมซัลเฟต/โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 27/ 6.0/1 น้ำหนัก/ปริมาตรตามลำดับ มีสัมประสิทธิ์การแยกส่วนเท่ากับ 0.15 เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 2 เท่า และเก็บเกี่ยวเอนไซม์เปอร็อกซิเดสในส่วนล่างได้ 50.54 ยูนิต/มิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 86.52 เมื่อผ่านเจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟีเอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 23 เท่า เก็บเกี่ยวเอนไซม์ได้ร้อยละ 72.51 นำเอนไซม์ที่ผ่านการทำปฏิกิริยามาศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดฟีนอลในน้ำเสีย พบว่า เอนไซม์หยาบมีประสิทธิภาพในการบำบัดฟีนอลในน้ำเสียจำลองที่มีความเข้มข้นของฟีนอล 1,000 ไมโครกรัมต่อลิตร มากที่สุด โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการใช้เอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากผักบุ้งทะเลในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานที่มีปริมาณฟีนอล 391 ไมโครกรัมต่อลิตร คือ การทำปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์ 0.33 ยูนิตต่อมิลลิลิตร อัตราส่วนระหว่างไฮโดรเจนเปอร็อกไซด์ต่อสับสเตรต 0.8 พีเอช 7 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยมีประสิทธิภาพการบำบัดฟีนอลร้อยละ 82.34

คำสำคัญ : เอนไซม์เปอร็อกซิเดส, ผักบุ้งทะเล, การทำปฏิกิริยา, การบำบัดฟีนอล

ABSTRACT

T167691

Crude peroxidase extracted from leaves of *Ipomoea pes-caprae* (Linn), Swiss, using deionized water was conducted. It was found that the enzyme activity and protein content were 25.27 unit/ml. and 325.05 mg/ml. respectively. The enzyme was partially purified by using ammonium sulphate fractionation, and extraction using a polyethylene glycol (PEG)/ammonium sulphate aqueous two-phase system (ATPS). Both partially purified peroxidase were followed by gel filtration on Sephadex G-100 column. It was found that, peroxidase was precipitated by ammonium sulphate fractionation has 1.85 fold purer than crude enzyme, with a recovery of 69.18 percent. The enzyme was finally purified about 10.53 fold by gel filtration on a Sephadex G-100 column, with a recovery of 24.93 percent. Variation of phase composition and sodium chloride concentration resulted in the desired reduction in volume of extract and selective partitioning of the enzyme. PEG/ammonium sulphate/sodium chloride (27/ 6.0/1 w/v) system induced a partition coefficient of 0.15, purification factor of 2 and bottom phase recovery of 86.52 percent. The enzyme was further concentrated by anti-dialysis and was finally purified about 23 fold by gel filtration on a Sephadex G-100 column, with recovery of 72.51 percent. Crude enzyme and differently purified enzymes were used to investigate the efficiency to remove phenolic compound from synthetic wastewater. The results showed that the highest phenol removal efficient was obtained from crude enzyme. Therefore, it was used to study on optimum reaction for industrial wastewater. The optimum molar ratio of hydrogen peroxide to substrate was 0.8, and enzyme dose was 0.33 U/ml. The optimum pH value was 7, temperature 50°C and time course at 4 hours. Beyond the optimum resulted phenol removal efficient of 82.34 percent.

Key word: Peroxidase, *Ipomoea pes-caprae* (Linn) Sweet, Purification, Phenol Removal