

จิรภา หินซุย 2552: การทำให้บริสุทธิ์ คุณลักษณะ และการใช้ประโยชน์เอนไซม์
 ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซินจากอวัยวะภายในปลานิล (*Oreochromis niloticus*
 Linneaus) ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง
 ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์
 วันชัย วรวัฒนเมธิกุล, Ph.D. 146 หน้า

การสกัดเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินจากอวัยวะภายในปลานิลด้วยสารละลายบัฟเฟอร์
 ทริส (pH 7.0) ความเข้มข้น 0.05 M ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0.5 M และแคลเซียมคลอไรด์ 0.02 M ใน
 อัตราส่วน 1: 5 (w/v) ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินสูงสุด (1.68 U/ml)
 รองมาคือ ลำไส้ ตับ อวัยวะภายในรวม และกระเพาะ ขณะที่กิจกรรมสูงสุดของเอนไซม์ไคโมทริปซิน
 พบที่ลำไส้ (0.17 U/ml) รองมาคือ ม้าม อวัยวะภายในรวม ตับ และกระเพาะ ลำไส้มีกิจกรรมจำเพาะ
 (0.17 U/ mg protein) ใกล้เคียงกับม้าม (0.19 U/ mg protein) แต่มีปริมาณมากกว่า จึงเลือกลำไส้เป็น
 อวัยวะที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ จึงนำเอนไซม์จากลำไส้ของปลานิลมาทำให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอน
 ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ตามด้วยการผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟีต่าง ๆ พบว่า ส่วนที่ละลายใน
 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกมีเอนไซม์ 4 ชนิด คือ S711, S712, S721 และ S722 โดย S711 เป็นเอนไซม์
 ที่พบมากที่สุด มีน้ำหนักโมเลกุล 26,000 Da มีกิจกรรมและความคงตัวอยู่ในช่วง pH 7-10 มีกิจกรรม
 สูงสุดที่ 70 °C และไม่มี ความคงตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 °C เอนไซม์นี้ตอบสนองต่อสารยับยั้งการทำงาน
 ของเอนไซม์เซรีน โปรติเอส (PMSF และอะโทรทินิน) สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (SBTI
 และ TLCK) และ สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซิน (TPCK) เอนไซม์นี้จึงเป็นเอนไซม์ที่มี
 คุณสมบัติคล้ายเอนไซม์ทริปซิน นอกจากนี้พบว่าส่วนที่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์มีเอนไซม์ 4
 ชนิด คือ S511, S512, S521 และ S522 โดย S521 เป็นเอนไซม์ที่แยกออกมาได้มากที่สุด มีน้ำหนัก
 โมเลกุล 51,800 Da มีกิจกรรมสูงสุดที่ pH 9.0 และอุณหภูมิ 70 °C มีความคงตัวที่ pH 7-10 แต่ไม่คงตัว
 ที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 °C เอนไซม์นี้ตอบสนองต่อสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซรีน โปรติเอส สาร
 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (SBTI) และ สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซิน
 เอนไซม์นี้จึงเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติคล้ายเอนไซม์ไคโมทริปซิน นำเอนไซม์ทริปซินจากปลานิลมา
 สกัดแคโรทีโนโปรตีนจากหัวกุ้งก้ามกรามในสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ คือที่ pH 8.0
 และอุณหภูมิ 25 °C พบว่าเวลา 3 ชม. เป็นเวลาที่เหมาะสมในการสกัดแคโรทีโนโปรตีนที่ให้ปริมาณ
 ผลผลิต 54.02% สูงกว่าเอนไซม์ทริปซินจากโค (48.3%) และการไม่ใช้เอนไซม์ (45.76%)

Jirapa Hinsui 2009: Purification, Characterization and Application of Trypsin and Chymotrypsin from Viscera of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linneaus).
Doctor of Philosophy (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Associate Professor
Wanchai Worawattanamateekul, Ph.D. 146 pages.

Nile tilapia enzyme was extracted with 0.05 M Tris-HCl, contained 0.5 M NaCl and 0.02 M CaCl₂ in ratio 1:5 (w/v) at 4 °C. Spleen was found to be the best source for trypsin with the highest activity at 1.68 units/ ml, followed by intestine, liver, mixed viscera and stomach, respectively. The best source for chymotrypsin was intestine, giving the highest activity at 0.17 units/ ml, followed by spleen, mixed viscera, liver and stomach, respectively. Specific activity of intestine trypsin (0.17 U/ mg protein) is closer to spleen trypsin (0.19 U/ mg protein). The quantity of intestine is more than spleen, so intestine was selected source for enzyme extraction. The enzymes were purified by ammonium sulfate precipitation, followed by chromatography columns. There were 4 enzyme fractions in hydrochloric acid fraction, S711, S712, S721 and S722. The highest concentration of enzymes was S711. The molecular weight was estimated to be 26,000 Da by SDS-PAGE. Enzyme activity and stability were in pH range of 7.0 -10.0. The optimum temperature was 70 °C. It was unstable at the temperatures higher than 50 °C. The activity was inhibited by serine protease inhibitor (PMSF and aprotinin), trypsin inhibitor (SBTI and TLCK) and chymotrypsin inhibitor (TPCK). It showed that it should be trypsin-like enzyme. There were 4 enzyme fractions in Tris fraction, S511, S512, S521 and S522. The highest concentration of enzymes was S521. The molecular weight was estimated to be 51,800 Da. The pH and temperature optimum was 9.0 and 70 °C, respectively. It was stable in pH range of 7.0 -10.0, but it was unstable at the temperatures higher than 60 °C. The activity was inhibited by PMSF and aprotinin, SBTI and TPCK. It showed that it should be chymotrypsin-like enzyme. Nile tilapia trypsin was used to extract carotenoprotein from head of giant freshwater prawn at pH 8.0 and 25 °C, optimum condition for enzyme, then found that 3 hours was suitable time to extract, giving the highest yield (54.02%) , followed by bovine trypsin (48.3%) and no enzyme (45.76%), respectively.