

จिरภา หินชุย 2552: การทำให้บริสุทธิ์ คุณลักษณะ และการใช้ประโยชน์เอนไซม์  
ทร립ซิน และเอนไซม์ไลโมทร립ซินจากอวัยวะภายในปลานิล (*Oreochromis niloticus*  
Linneaus) ปรินญาปรินญาคุยฎีบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง  
ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง ปรินชานกรรกรการที่ปรินญา: รรจนศาสตราจาร์  
วันชัย วรวัธนเมธีกุล, Ph.D. 146 หน้า

การสกัดเอนไซม์ทร립ซินและไลโมทร립ซินจากอวัยวะภายในปลานิลด้วยสารละลายบัฟเฟอร์  
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 ม้ามมีกิจกรรมของเอนไซม์ทร립ซินสูงที่สุด (1.68 U/ml)  
รองมาคือ ลำไส้ ตับ อวัยวะภายในรวม และกระเพาะ ขณะที่กิจกรรมสูงที่สุดของเอนไซม์ไลโมทร립ซิน  
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 เอนไซม์นี้ตอบสนองต่อสารยับยั้งการทำงานของ  
เอนไซม์เซรีนโปรติเอส (PMSF และอะโปรทีนิน) สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทร립ซิน (SBTI  
และ TLCK) และ สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลโมทร립ซิน (TPCK) เอนไซม์นี้จึงเป็นเอนไซม์ที่มี  
คุณสมบัติคล้ายเอนไซม์ทร립ซิน นอกจากนี้พบว่าส่วนที่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสมีเอนไซม์ 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 เอนไซม์นี้ตอบสนองต่อสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซรีนโปรติเอส สาร  
ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทร립ซิน (SBTI) และ สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลโมทร립ซิน  
เอนไซม์นี้จึงเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติคล้ายเอนไซม์ไลโมทร립ซิน นำเอนไซม์ทร립ซินจากปลานิลมา  
สกัดแคโรทีโนโปรตีนจากหัวกุ้งก้ามกรามในสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ คือที่ pH 8.0  
และอุณหภูมิ 25 °C พบว่าเวลา 3 ชม. เป็นเวลาที่เหมาะสมในการสกัดแคโรทีโนโปรตีนที่ให้ปริมาณ  
ผลผลิต 54.02% สูงกว่าเอนไซม์ทร립ซินจาก โค (48.3%) และการไม่ใช้เอนไซม์ (45.76%)