

บทคัดย่อ

เอนไซม์ β -galactosidase (lactase; EC 3.2.1.23) เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นมและอุตสาหกรรมอาหาร โดยมีความสามารถในการสลายพันธะไกลโคสิติกของแลคโตสได้เป็นกลูโคสและกาแลคโตส จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ β -galactosidase จากนั้นทำบริสุทธิ์ และ ศึกษาลักษณะสมบัติของ β -galactosidase จากเอนไซม์ที่ผลิตได้ จากการศึกษาเอนไซม์ β -galactosidase ที่ได้จากบ่อน้ำพุร้อนท่าปายสายพันธุ์ B1.1 พบว่าแลคโตสและ peptone เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์ β -Galactosidase ตามลำดับ pH เริ่มต้น 8.5 และ อุณหภูมิเท่ากับ 45 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะดังกล่าวได้กิจกรรมและกิจกรรมเฉพาะของเอนไซม์เท่ากับ 0.478 unit/ml และ 0.338 unit/mg ตามลำดับ หลังจากการเลี้ยงเชื้อ 13 ชั่วโมงโดยมี 2.5% lactose, 2.0% peptone, 0.3% K_2HPO_4 , 0.1% KH_2PO_4 และ 0.05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำบริสุทธิ์เอนไซม์ด้วย ion-exchange และ affinity chromatography พบว่า มีความบริสุทธิ์ 2.58 เท่า ค่า K_m และ V_{max} เมื่อใช้ oNPG เป็นสารตั้งต้นเท่ากับ 7.94 mM และ $2.00 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ตามลำดับ pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ คือ 6.5 และ 65 °C ตามลำดับ

Abstract

The enzyme β -galactosidase (lactase; EC 3.2.1.23) is a commercially important enzyme due to its various applications in dairy and food industries, which hydrolysis of β -D-galactopyranosidic linkage to glucose and galactose. The objectives of the work were to determine the optimum condition on the production of β -galactosidase then purify and characterize. β -galactosidase form B1.1 screened from Tha Pai hot spring was produced with lactose and peptone as carbon and nitrogen sources, respectively. Optimal enzyme production occurred at an initial pH of 8.5 and at 45 °C. Under these optimum culture conditions, a maximum activity and specific activity of β -galactosidase were calculated to be 0.478 unit/ml and 0.338 unit/mg, respectively, after 13 h of fermentation in a medium containing 2.5% lactose, 2.0% peptone, 0.3% K_2HPO_4 , 0.1% KH_2PO_4 and 0.05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. The β -galactosidase was purified by ion-exchange and affinity chromatography and with a fold purification of 2.58. The K_m and V_{max} values for oNPG as a substrate were determined as 7.947 mM and $2.00 \times 10^{-3} \text{ mmolL}^{-1} \text{ min}^{-1}$, respectively. The pH and temperature optima for the purified enzyme are 6.5 and 65 °C, respectively.

Keywords: β -galactosidase, thermophilic, production, purification