บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการตรึงรูปไลเพสบนผืนเส้นใยอิเล็กโทรสปัน PS/PSMA ชนิดของตัวทำละลายและภาวะที่ใช้ในการอิเล็กโทรสปินนิงมีผลโดยตรงต่อสัณฐานวิทยาของเส้นใยที่เตรียมได้ ภาวะในการเตรียมเส้นใยสามารถควบคุมด้วยการปรับ ศักย์ไฟฟ้า (kV): ระยะห่างปลายเข็มกับฉากรับ (cm): ความเข้มข้นของสารละลาย (%w/w) ทั้งนี้พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมเส้นใยอิเล็กโทรสปันจากพอลิเมอร์ผสมระหว่าง PS ต่อ PSMA ที่ 1:0, 4:1 และ 1:1 คือ 8:10:20, 6:11:15 และ 8:10:12 ตามลำดับ ตัวทำลายที่เหมาะสมสำหรับ 1:0 และ 1:1 PS/PSMA คือตัวทำละลายผสมระหว่าง DMF และ THF ที่อัตราส่วน 1:1 ส่วนตัวทำลายที่เหมาะสมสำหรับ 4:1 PS/PSMA คือ 2:1 DMF:THF เส้นใยที่เตรียมได้ด้วยภาวะดังกล่าวมีลักษณะเรียบและไม่เกิดเป็นปม รวมถึงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เล็กที่สุด

เมื่อนำเส้นใยที่เตรียมจากภาวะดังกล่าวไปตรึงรูปเอนไซม์ พบว่าการใช้ผืนเส้นใยที่เตรียมจาก 1:1 PS/PSMA ให้ประสิทธิภาพของการตรึงรูปดีที่สุด โดยมีค่าความจุเอนไซม์และค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ตรึงรูป (U/mg support) สูงกว่าการใช้ 4:1 PS/PSMA และ 1:0 PS/PSMA ตามลำดับ นอกจากนี้การปรับสภาพเส้นใยอิเล็กโทรสปัน 1:1 PS/PSMA ด้วยแอลกอฮอล์ก่อนนำไปตรึงรูปยังสามารถเพิ่มค่าความจุเอนไซม์ได้ 2.9 เท่า โดยมีแอกทิวิตีของเอนไซม์ตรึงรูปที่ใกล้เคียงกับการใช้เส้นใยที่ไม่ได้ปรับสภาพ จากการตรวจสอบความสามารถในการนำกลับมาใช้ซ้ำเพื่อเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส พบว่าเอนไซม์ตรึงรูปบน 1:1 PS/PSMA สามารถใช้ซ้ำได้ถึง 6 ครั้ง ในขณะนี้เอนไซม์ตรึงรูปบนเส้นใยอิเล็กโทรสปันจาก PS/PSMA ที่มีสัดส่วนของ PSMA น้อยกว่าร้อยละ 50 สามารถใช้ซ้ำได้น้อยครั้งกว่า นอกจากนี้ยังได้ศึกษาประสิทธิภาพการตรึงรูปไลเพสบนวัสดุค้ำจุนทางการค้าชนิด NKA ซึ่งเป็น PS bead เพื่อเปรียบเทียบกับของผืนเส้นใยอิเล็กโทรสปัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ารูปทรงที่แตกต่างกันของวัสดุค้ำจุนมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการตรึงรูป ทั้งนี้พบว่าเอนไซม์ตรึงรูปบน NKA มีค่าความจุเอนไซม์ที่ต่ำกว่าแต่มีค่าแอกทิวิตีต่อน้ำหนักไลเพสของเอนไซม์ตรึงรูปที่สูงกว่ากรณีที่ใช้เส้นใยอิเล็กโทรสปัน

Abstract

This research is aimed to study efficiencies of lipase immobilization on PS/PSMA e-spun mats. Solvents and conditions utilized in electro-spinning process have influences on morphology of the obtained fibers. E-spinning process is controlled by adjusting voltage (kV): needle to collector distance (cm): concentration of polymer solution (%w/w). It is found that the suitable conditions for e-spinning 1:0 PS/PSMA, 4:1 PS/PSMA and 1:1 PS/PSMA are 8:10:20, 6:11:15 and 8:10:12, respectively. While a suitable solvent for preparing 1:0 และ 1:1 PS/PSMA is mixed solvent of DMF and THF at mixing ratio of 1:1, the solvent for 4:1 PS/PSMA is 2:1 DMF:THF.

When using the e-spun PS/PSMA mat as supporting materials for immobilizing enzyme, It is found that 1:1 PS/PSMA e-spun mat provides the highest immobilization efficiency. Protein loading and hydrolysis activity (U/mg support) of enzyme immobilized on 1:1 PS/PSMA e-spun mat are higher than those on 4:1 PS/PSMA and 1:0 PS/PSMA, respectively. Moreover, pre-treatment of 1:1 PS/PSMA e-spun mat with alcohol, before using in enzyme immobilization, can improve the protein loading by ~2.9x without effecting enzyme activity. From the re-usability test with hydrolysis reaction, while immobilized enzyme on 1:1 PS/PSMA is possibly re-used for 6 times, the lipase on e-spun PS/PSMA with PSMA content less than 50% can be re-used much less. In addition, the study on efficiency of lipase immobilization on commercial support as NKA (PS bead) is conducted in order to compare with that of e-spun mat. Results show that shape (form) of the supporting materials has an influence on the immobilization efficiency. Immobilized enzyme of NKA has lower protein loading but much higher activity (U/mg lipase) than that of e-spun mats.

Keyword: enzyme immobilization, lipase, e-spun fibers, PS, PSMA