

52401205: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ: แก่นตะวัน/ เอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรส/ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์

ศรีสุดา เคยอาษา: การศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรสจากแก่นตะวันเพื่อนำไปผลิตฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ. ดร.บุษราภรณ์ งามปัญญา, ผศ. ดร.พิมพ์ชนก จตุรพิริย์, ดร. สุวัฒนา พุกยะศรี. 102 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ วิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรสในแก่นตะวันภายใต้สภาวะ *in vitro* เพื่อใช้เป็นแหล่งของเอนไซม์สำหรับผลิตฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์จากการศึกษา พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของแก่นตะวัน โดยห้วสะสมอาหารของแก่นตะวันอายุ 105- 120 วัน มีปริมาณฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และค่ากิจกรรมของเอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรสสูงสุด เท่ากับ 113 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และ 0.103 - 0.098 หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อนำเอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรสมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุลบ โครมาโตกราฟีแบบสัมพรรคภาพ และการกรองโดยใช้เยื่อบางแบบอัลตรา ตามลำดับ พบว่า เอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรสบริสุทธิ์ที่ได้มีค่ากิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 44.402 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 43.275 เท่า ทำงานได้ดีที่พีเอช 5.4 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีค่า  $K_m$  และ  $V_{max}$  สำหรับซูโครส เท่ากับ 0.372 โมลาร์ และ 1.218 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตรต่อชั่วโมง โดยพบการทำงานของเอนไซม์ที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อมี pyridoxal-HCl ในขณะที่ KI มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ นอกจากการวิเคราะห์คุณลักษณะต่างๆ ของเอนไซม์แล้วยังได้มีการศึกษาการสังเคราะห์ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยอาศัยเอนไซม์บริสุทธิ์ที่ได้ด้วย ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เอนไซม์บริสุทธิ์ที่ได้สามารถสังเคราะห์ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้เมื่อใช้ซูโครสเป็นสารตั้งต้น และเมื่อนำฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการสังเคราะห์มาทดสอบคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกพบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อที่เป็นโพรไบโอติกได้

---

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

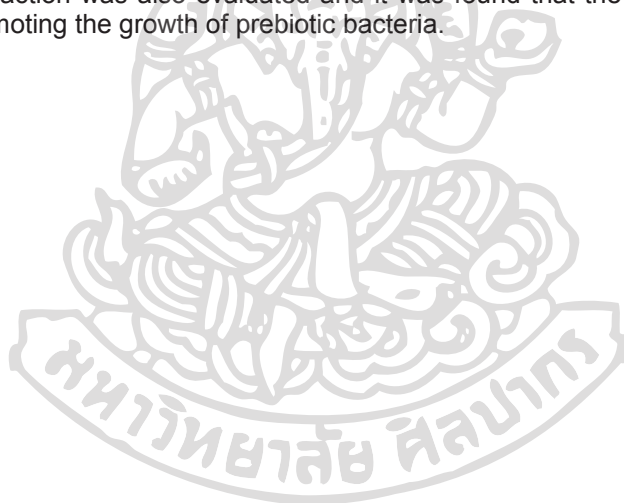
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1.....2.....3.....

52401205: MAJOR: BIOTECHNOLOGY

KEY WORDS: JERUSALEM ARTICHOKE/ FRUCTOSYLTRANSFERASE/  
FRUCTOOLIGOSACCHARIDES

SRISUDA KEAYARSA: CHARACTERIZATION OF FRUCTOSYLTRANSFERASE  
EXTRACTED FROM JERUSALEM ARTICHOKE FOR FRUCTOOLIGOSACCHARIDES  
PRODUCTION. THESIS ADVISORS: ASST. PROF. BUDSARAPORN NGAMPANYA, Ph.D.  
ASST. PROF. PHIMCHANOK JATURAPIREE, Dr.nat.techn. AND SUWATTANA PRUKSASRI,  
Ph.D. 102 pp.

This research aimed to analyze the activity of fructosyltransferase (FTase) in Jerusalem artichoke under *in vitro* condition in order to use as enzyme source for fructooligosaccharides (FOS) production. The results showed the correlation of enzyme activity and amount of FOS in each growth stage of Jerusalem artichoke. Tuber of 105-120 days old plants gave the highest FOS amount and FTase activity at 113 mg/g FW and 0.103- 0.098 U/ml. When FTase was purified by anion exchange chromatography, affinity chromatography and ultrafiltration in sequentially, the purified FTase with specific activity of 44.402 U/mg proteins and purification fold of 43.275 was obtained. The optimal pH and temperature of purified FTase were 5.4 and 35°C. The  $K_m$  and  $V_{max}$  values for sucrose were 0.372 M and 1.218  $\mu\text{mol. ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . The FTase activity was enhanced by pyridoxal-HCl, while KI had an effect to inhibit the activity of enzyme. In addition to characterize enzyme properties, the synthesis of FOS by action of this purified enzyme was analyzed as well. The results revealed the ability of purified FTase to synthesize FOS when sucrose was used as substrate. Additionally, prebiotic property of the FOS resulted from enzyme reaction was also evaluated and it was found that the FOS products had prebiotic property by promoting the growth of prebiotic bacteria.



---

Department of Biotechnology      Graduate School, Silpakorn University      Academic Year 2011

Student's signature.....

Thesis Advisors' signature 1.....2.....3.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ(วช.) และสำเร็จได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งของ ผศ.ดร.บุษราภรณ์ งามปัญญา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความรู้ คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ พร้อมทั้งตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องจนสำเร็จสมบูรณ์ และประสบผลสำเร็จไปด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุวัฒนา พุกษะศรี ผศ.ดร.พิมพ์ชนก จตุรพิริย์ ดร.สินธุ์วัฒน์ ฤทธิธรรม และ ดร.สันทัต วิเชียรโชติ ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการในการสอบและให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะเพิ่มเติมในการแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากรทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่านที่ให้ความสะดวก และให้ความช่วยเหลือในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัย ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ผู้มีพระคุณทุกท่าน และครูอาจารย์ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้กับผู้วิจัยทั้งในอดีตและปัจจุบัน

ขอบคุณเพื่อน พี่ และน้องๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัยนี้