

生產蛋白質分解媒之研究

歐宜書、王三郎

E-mail: 8701179@mail.dyu.edu.tw

摘要

由台灣北部土壤分離出一株在pH7.0、37 °C能以3%的蝦蟹殼粉為主要碳源之幾丁質[?]生產菌, *P. aeruginosa* K-187。此菌所生產的酵素液中, 經鑑定除了有雙機能幾丁質[?]/溶菌[?]的活性之外, 尚具有蛋白質[?]活性。而以蝦蟹殼粉為*P. aeruginosa* K-187生產蛋白質[?]之主要碳源, 發現當蝦蟹殼粉為5%、K₂HPO₄為0.1%、MgSO₄·7H₂O為0.5%、lactose 為1%、NH₄NO₃為0.5%及FeSO₄·7H₂O為0.5%, 用磷酸緩衝液(pH8)培養體積為50mL加入於250mL之三角錐瓶中, 在25 °C之培養箱培養二天, 可獲得最大之蛋白質分解[?]活性。比未經最適生長條件探討之前的活性(2.2U/mL)提昇約10倍左右(21.2U/ml)。以最適蛋白質[?]培養條件來做微生物去蛋白質時發現, 以液態培養來去除蝦蟹殼粉之蛋白質, 其蛋白質去除率可達72%, 至於液態培養來去除天然蝦殼的蛋白質去除率則可高達78%, 而其它像花枝蝶蛸及經過酸處理過後之蝦蟹殼的蛋白質去除率則分別為41%及48%。而未經最適化探討之前, 以液態培養的方式來去蝦蟹殼粉、天然蝦頭及天然蝦殼蛋白質率則分別為48%、55%及60%。由此可明顯的看出, 經過最適生產蛋白質[?]條件探討後之培養基, 其蛋白質去除率比未經探討的基礎培養基高出甚多。無論是何種水產廢棄物材料, 蛋白質去除率均比一般工業上主要用來生產蛋白質[?]之枯草桿菌(枯草菌之蝦蟹殼粉蛋白質去除率為70%)高。亦比其它一些可食用之蛋白質[?]生產菌株高出許多, 像*Eurotium repens*、*Monascus purpureus*對蝦蟹殼粉之蛋白質去除率為59%及31%。同時也意外的發現, 加入少許(0.02%)的Sodium azide(防腐劑)並不會完全抑制微生物的生長, 而導致失去其去蛋白質的能力。同時也證實了微生物法去蛋白質效果比酵素法來的有效。亦說明了增加酵素之濃度並不會增加蛋白質的去除率, 僅會縮短去蛋白質的時間。利用*P. aeruginosa* K-187之最適生產蛋白質[?]條件生產蛋白質[?], 經硫酸胺沉澱、透析後, 進行DEAE-Sepharose CL-6B離子交換層析及Sephacryl S-200膠體層析一連串純化分離的步驟。所純化分離出之蛋白質[?]純度約為未純化分離前的19倍左右。經純化分離出來之蛋白質[?]在50 °C、pH 7.9之內酵素都能保持穩定狀態, 而最適反應溫度及最適反應pH值分別為50 °C及pH 8。進行SDS-PAGE電泳分析可知其分子約為58.8KDa左右。利用*P. aeruginosa* K-187所生產蛋白質[?]可共價鍵結於一個隨pH值改變可溶性質的高分子聚合物AS-L上。此固定化酵素可在pH5.5以上時完全溶解, 在pH4.5以下則完全不溶解。在使用粗酵素液做固定化研究時, 可達82%之固定化率。至於pH值穩定性及熱穩定性分別為pH 6.9和60 °C。而最適反應pH值及最適反應溫度為pH 8和50 °C。用固定化酵素做蛋白質去除率的探討與未固定的游離酵素做比較, 發現對蝦蟹殼粉的蛋白質去除率則由游離酵素之72%變為固定化酵素之67%。

關鍵詞: 去蛋白; 蛋白質分解酶; 固定化

目錄

0

參考文獻

0