

FTB 54 (1) 70-77.

(FTB-4122)

Pročišćavanje i karakterizacija α -amilaze izolirane iz soja *Anoxybacillus* sp. AH1, stabilne pri visokim temperaturama i u prisutnosti detergenata

Sažetak

U radu je pročišćena i okarakterizirana α -amilaza, izolirana iz novootkrivenog soja bakterije *Anoxybacillus* sp. AH1, stabilna pri visokim temperaturama u prisutnosti detergenata. Najveća količina enzima (1874,8 U/mL) proizvedena je nakon 24 sata inkubacije. Nakon pročišćavanja amilaze gel-filtracijskom kromatografijom u koloni punjenoj gelom Sephadex G-75, specifična se aktivnost enzima povećala 18 puta, a prinos je bio 9 %. Metodom SDS-PAGE određena je molekularna masa pročišćenog enzima od 85 kDa. Optimalna je pH-vrijednost bila 7,0; a optimalna temperatura 60 °C. Enzim je bio izuzetno stabilan u prisutnosti 30 %-tnog glicerola, te je zadržao 85 % aktivnosti na 60 °C tijekom 120 min. Pomoću Lineweaver-Burkovog dijagrama utvrđeno je da je vrijednost K_m amilaze bila 0,102 μ mol, a v_{max} 0,929 μ mol/min. Aktivnost se enzima povećala u prisutnosti različitih detergenata, dok se u prisutnosti uree znatno smanjila. Ioni magnezija i kalcija bitno su povećali, a ioni cinka i bakra, te kelatori metalnih iona EDTA i 1,10-fenantrolin smanjili aktivnost α -amilaze. Aktivnost se α -amilaze znatno povećala i u prisutnosti β -merkptoetanolu i ditiotreitola, no smanjila dodatkom *p*-kloromerkuribenzojeve kiseline. Jodoacetamid i *N*-etilmaleimid imali su blag, a fenilmetilsulfonil fluorid jak inhibicijski učinak na aktivnost amilaze.

Ključne riječi: α -amilaza stabilna u prisutnosti detergenata, *Anoxybacillus* sp. AH1, inhibicija enzima, pročišćavanje enzima