

Pročišćavanje i karakterizacija ekstracelularne dekstran saharaze iz bakterije *Pediococcus pentosaceus*, izolirane iz tla sjeveroistočne Indije

Sažetak

U radu je pročišćena i okarakterizirana dekstran saharaza iz bakterije *Pediococcus pentosaceus*, izolirane iz tla u gradu Assamu, Indija. Aktivnost je enzima u supernatantu bila 3,4 U/mL, a njegova je specifična aktivnost iznosila 0,6 U/mg. Sirovi je enzim pročišćen jednostupanjskim frakcioniranjem pomoću polietilen glikola različite molekularne mase. Utvrđena je specifična aktivnost enzima od 18 (pročišćenog 31 put pomoću PEG 400), odnosno 26 U/mg (pročišćenog 45 puta pomoću PEG 1500). Molekularna je masa dekstran saharaze određena pomoću SDS-PAGE, a iznosila je otprilike 180 kDa. Aktivnost je enzima potvrđena bojanjem nastalog dekstrana s Coomassie brilijant plavom bojom. Optimalni su uvjeti za aktivnost enzima bili: pH=5,4; temperatura reakcije od 30 °C; te dodatak 5 %-tne saharoze i acetatnog pufera (20 mM). Dodatak 1 mM MgCl₂ i 6 mM CaCl₂ povećali su aktivnost enzima za 5, odnosno 150 %. Inaktivirajući agensi, poput uree (7 M) i EDTA (1 mM) smanjili su aktivnost enzima na 98 odnosno 80 %. Organska su otapala također smanjila aktivnost enzima, i to: 50 %-tni etanol na 80 %, 90 %-tni DMSO na 91 %, 50 %-tni aceton na 94 % i 20 %-tni acetonitril na 80 %.

Ključne riječi: dekstran saharaza, polietilen glikol, SDS-PAGE, utvrđivanje aktivnosti bojanjem, *Pediococcus pentosaceus*