خواص أنزيمات الألفا- أميليز من المسواك (سالفادورا بيرسيكا)

ياسر قائد مصلح المليكي

أشراف أ.د. صالح أحمد محمد

المستخلص

أنزيمات الإميليز من تتبع أنزيمات التحلل والتي تنتشر علي نطاق واسع في الميكروبات والنباتات والحيوانات. وتعمل علي تكسير رابطة أكسجين - جليكوسيد في النشاء. تركز هذه الدراسة على إنتاج وتنقية وخواص إنزيم ألفا-أميليز من المسواك لتعيين الظروف المناسبة لاستخدام هذا الإنزيم في معجون الأسنان في المستقبل.

شملت طرق تنقية أنزيم الالفا أميليز من المسواك إستخدام عمودين من الداي إيثيل أمينو إيثيل – سيفاروز والسيفاكريل إس –200 . و قدر الوزن الجزيئى لإنزيمات الألفا-أميليز A1 و A4a و A4b و A5a وA5b بـ 14 و 74 و 16 و 30 و 20 كيلو دالتون على التوالي بإستخدام الترشيح على الجل و الفصل الكهربى على جل كبريتات دودوسيل الصوديم- بولى اكريلميد.

تم دراسة درجة القابلية بين المادة الوسيطة والإنزيمات. تبين أن إنزيمات الالفا- أميليز من المسواك لها أس هيدروجينى أمثل من 6 ــ 8 . وقد قدرت قيم ثابت ميكائيل لإنزيمات الإلفا- أميليز من المسواك بـ 3,7 و 3,7 و7,1 و 5,2 و 4,3 ملجم نشا/ 0,5 مل و 5,95 و 5,9 و 4,16 و 6,3 و 6,49 ملجم جليكوجين/ 0,5مل وأعلى نشاط 0,71، 0,60، 1,36، 0,37، 0,71 و 1,04، 0,03، 0,25، 0,16، 0,15 ميكرومول سكر مختزل/ 0,5 مل، على التوالي. وجد أن درجة الحرارة المثلى لكل الإنزيمات تتراوح من 40°م ــ 60° م كما أن الإنزيمات لها ثابتيته للحرارة من 40°م ــ 60° م لمدة 30 دقيقه من التحضين. تبين أن الكاتيونات الفلزية المختبرة لها تأثيرات تثبيطية مختلفة على نشاط إنزيمات الالفا- أميليز من المسواك. وجد أن الثلاث مكونات المخلبية للفلزات، EDTA ، سيترات الصوديوم وأوكسالات الصوديوم لهم نشاط تثبيطي على كل الإنزيمات وبالنسبة للمثبطاتPMSF و1,10 فينانثرولين فإنها تسبب تثبيط قليل على إنزيمات A1, A4a ، A4b وتثبيط جزئي على إنزيمات A5a ، A5b كما وجد أن إنزيمات الالفا-أميليز A1 ،A4a ، A5b تثبط بقوة بواسطة المثبط *p*-HMB بينما إنزيمات A4b، A5a تثبط جزئيا. وثبط جزئيا المثبط DTNB كل من الإنزيمات A1 ، A4a، A4b ، A5b بينما ثبط قليلا إنزيم A5a .

Characterization of α-amylase from miswak (salvadora persica)

Yaaser Qaaed Musleh Almulaiky

Supervised by

Prof.Dr. Saleh Ahmed Mohamed

Abstract

Amylases (EC 3.2.1.1) are a class of hydrolases widely distributed in microbes, plants and animals. They can specifically cleave the *O*-glycosidic bonds in starch. This study focused on the extraction, purification and characterization of α-amylase from miswak tree for detecting the suitable conditions for using this enzyme in toothpaste in the future.

The purification method included chromatography of α-amylase on DEAE-Sepharose column and Sephacryl S-200 column.

The miswak α-amylases A1, A4a, A4b, A5a and A5b had molecular weights of 14, 74, 16, 30 and 20 kDa, respectively using gel filtration and SDS-PAGE. Miswak α-amylases had optimum pH from 6 to 8. Affinity of the substrates toward all enzymes was studied. Miswak α-amylases had Km values for hydrolyzing potato soluble starch and glycogen of 3.7, 3.7, 7.1, 0.52, 4.3 mg/0.5 ml and 5.95, 5.9 4.16, 6.3, 6.49 mg/0.5 ml, with catalytic efficiencies (Vmaxs) of 0.71, 0.60, 1.36, 0.37, 0.71 and 1.04, 0.03, 0.25, 0.16, 0.15 μmol reducing sugar/0.5 ml, respectively. The optimum temperature for five enzymes ranged 40˚C- 60˚C. Miswak α-amylases were stable up to 40°C- 60˚C after incubation for 30 min. All the examined metal cations showed different activation/inhibition effects on the activity of miswak α-amylases. The metal chelators, EDTA, sodium citrate and sodium oxalate had inhibitory effects on miswak α-amylases. PMSF and 1,10 phenanthroline caused slightly inhibitory effect on amylases A1, A4a and A4b and partially inhibitory effect on A5a and A5b. α-amylases A1, A4a and A5b were strongly inhibited, whereas A4b and A5a were partially inhibited by *p*-HMB. DTNB caused partially inhibitory effect on the enzymes A1, A4a, A4b and A5b while caused slightly inhibitory effect on the A5a.