

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA**

**Peperiksaan Semester Pertama  
Sidang Akademik 1995/96**

**Oktober/November 1995**

**IMG 317/3 - TEKNOLOGI ENZIM**

**Masa : [3 jam]**

---

Sila pastikan bahawa kertas soalan ini mengandungi LAPAN (8) mukasurat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.

Jawab LIMA (5) soalan dari TUJUH (7) soalan yang diberi. Sekurang-kurangnya satu (1) soalan mesti dijawab dalam Bahasa Malaysia. Soalan-soalan lain boleh dijawab sama ada dalam Bahasa Malaysia atau Bahasa Inggeris.

Semua soalan mempunyai nilai markah yang sama.

1. Senaraikan kaedah-kaedah untuk pengimobilan enzim. Beri perincian kaedah penggandingan (coupling method) dengan menguraikan mekanisma pengikatan kovalen dengan sekurang-kurangnya tiga tindakbalas tipikal. Apakah matriks-matriks penyokong yang sesuai untuk kaedah ini?

*List out all methods for immobilisation of enzymes. Give details of the 'coupling' method explaining the mechanism of covalent bonding with at least three typical reactions. What are suitable support matrices for this method?*

(20 markah)

2. Huraikan bagaimana enzim membantu di dalam

*Explain how enzymes help in*

- (a) penstabilan warna dan perisa jus buah-buahan,

*stabilisation of fruit juices colour and flavor,*

(5 markah)

- (b) penukaran minyak sawit kepada tandingan lemak koko

*(cocoa-butter equivalent),*

*conversion of palm oil into cocoa-butter equivalent,*

(5 markah)

- (c) menjadikan bir tahan dingin (*chill-proof*), dan  
*chill-proofing of beer, and*  
(5 markah)

- (d) pembuatan roti.  
*bread-making.*  
(5 markah)

3. Kenapakah tindakbalas enzim tertib pertama walaupun ia adalah bi-molekul? Adakah terdapat apa-apa perbezaan kinetik antara tindakbalas yang dimangkin oleh enzim dan yang dimangkin oleh kimia? Sekira tidak, terbitkan satu persamaan kadar samada untuk suatu enzim atau untuk tindakbalas bermangkin kimia yang am dan buktikan bahawa kedua-duanya adalah sama. Sekira ya, terbitkan cuma persamaan kadar untuk tindakbalas bermangkin enzim, dan tunjukkan perbezaannya. Apakah nama khusus persamaan tindakbalas bermangkin enzim?

*Why is an enzyme reaction of first order even though it is bi-molecular? Is there any difference between an enzyme and a chemical catalyst reaction kinetically? If not, derive a rate equation either for an enzyme or for a general chemical catalysed reaction and prove that both are the same. If so, derive only the rate equation for the enzyme catalysed reaction and show the difference. What is the particular name of the equation in the case of an enzyme catalysed reaction?*

(20 markah)

4. Huraikan/Tuliskan catatan ringkas bagi bahagian yang berikut.

*Explain/Write short notes on the following.*

- (a) enzim-enzim hidrolisis dan tak-hidrolisis yang diguna di dalam pemprosesan makanan, dengan contoh-contoh.

*'hydrolytic' and 'non-hydrolytic' enzymes used in food processing with examples.*

(5 markah)

- (b) kesan pembauran liang ke atas reaktor enzim termobil.

*'pore-diffusion' effect on immobilised enzyme reactors.*

(5 markah)

- (c) punca-punca enzim.

*enzyme sources.*

(5 markah)

- (d) ekstraksi enzim-enzim terikat sel.

*extraction of cell-bound enzymes.*

(5 markah)

5. Jawab semua bahagian soalan ini.

*Answer all parts of this question.*

- (a) Berikut ialah satu set data yang diperolehi dari skema penulenan poligalakturonase yang diasingkan dari *Penicillium pinophilum*. Poligalaktronase, HM I, yang ditulenan dari cecair kultur melalui pemendakan dengan ammonium sulfat, kromatografi penukar ion dan kromatografi penapisan gel. Kirakan hasil dan faktor penulenan enzim tersebut pada setiap peringkat.

|                                | Isipadu<br>(ml) | Aktiviti<br>(U ml <sup>-1</sup> ) | Protein<br>(mg ml <sup>-1</sup> ) |
|--------------------------------|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Filtrat kultur                 | 1000            | 1.0                               | 1.0                               |
| Bahagian 40-80%<br>penepuan    | 80              | 4.37                              | 0.24                              |
| KROMATOGRAFI<br>CM Sephadeks   |                 |                                   |                                   |
| Puncak 1                       | 108             | 0.64                              | 0.009                             |
| Puncak 2                       | 189             | 1.04                              | 0.044                             |
| KROMATOGRAFI<br>SP Sephadeks   |                 |                                   |                                   |
| Puncak 2                       | • 315           | 0.42                              | 0.013                             |
| KROMATOGRAFI<br>Sephadeks G100 |                 |                                   |                                   |
| HM I                           | 117             | 0.99                              | 0.008                             |

The following is a set of data obtained from a purification scheme of polygalacturonase derived from Penicillium pinophilum. Polygalacturonase, HM I, was purified from culture fluid by precipitation with ammonium sulphate, ion exchange chromatography and gel filtration chromatography. Calculate the yield and purification factors of the enzyme at each stage.

|                            | Volume<br>(ml) | Activity<br>(U ml <sup>-1</sup> ) | Protein<br>(mg ml <sup>-1</sup> ) |
|----------------------------|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Culture filtrate           | 1000           | 1.0                               | 1.0                               |
| 40-80% saturation fraction | 80             | 4.37                              | 0.24                              |
| <b>CHROMATOGRAPHY</b>      |                |                                   |                                   |
| <i>CM Sephadex</i>         |                |                                   |                                   |
| Peak 1                     | 108            | 0.64                              | 0.009                             |
| Peak 2                     | 189            | 1.04                              | 0.044                             |
| <b>CHROMATOGRAPHY</b>      |                |                                   |                                   |
| <i>SP Sephadex</i>         |                |                                   |                                   |
| Peak 2                     | 315            | 0.42                              | 0.013                             |
| <b>CHROMATOGRAPHY</b>      |                |                                   |                                   |
| <i>Sephadex G100</i>       |                |                                   |                                   |
| HM I                       | 117            | 0.99                              | 0.008                             |

(6 markah)

- (b) Terangkan prinsip yang terlibat pada setiap peringkat penulenan enzim.

*Explain the principle involved at each stage of enzyme purification.*

(14 markah)

6. Jawab semua bahagian soalan ini.

*Answer all parts of this question.*

- (a) Terangkan bagaimana titik-titik isoelektrik komponen-komponen sampel (enzim mentah) mempengaruhi pilihan penukar ion yang hendak digunakan dalam penulenan enzim.

*Explain how the isoelectric points of sample (crude enzyme) components influence the choice of an ion exchanger to be used for enzyme purification.*

(10 markah)

- (b) Apakah langkah-langkah yang perlu diikuti dalam penentuan keadaan awal sesuatu penukar ion?

*What are the necessary steps followed in the determination of starting conditions of an ion exchanger?*

(10 markah)

7. Jawab semua bahagian soalan ini.

*Answer all parts of this question.*

- (a) Bincangkan faktor-faktor yang mempengaruhi kebolehlarutan protein globular.

*Discuss the factors that influence solubility of globular protein.*

(8 markah)

- (b) Bagaimanakah faktor-faktor ini dapat dimanfaatkan dalam langkah penulenan yang melibatkan kaedah pengaraman (salting-in)?

*How could these factors be of benefit to an enzyme purification step involving a salting-in method?*

(12 markah)

oooooooooooo0oooooooooooo0oooooooooooo