

บทคัดย่อ

การศึกษาการทำชุดตรวจสอบ dextran ในสารละลายโดยใช้เอนไซม์ dextranase จากเชื้อ *Aspergillus* sp. X26 พบว่า สามารถผลิต Sephacryl S-300 dextranase complex และ เอนไซม์ dextranase ที่ตรึงบนแผ่น nitrocellulose ได้ โดย Sephacryl S-300 dextranase complex เตรียมได้จากการใช้เอนไซม์ dextranase จับกับ Sephacryl S-300 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ dextran ทำให้สามารถจับกับ dextranase ได้แบบจำเพาะ เมื่อนำมาทดสอบการทำปฏิกิริยากับ dextran T2000 พบว่า เอนไซม์ dextranase สามารถจับกับ Sephacryl S-300 มีกิจกรรมของเอนไซม์ 0.02U/ml ในสารละลาย 0.05M citrate buffer pH 5.5 ที่มี 0.625% w/v dextran T2000 บ่มที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 10 นาที จากการหาค่าจลนพลศาสตร์ของ Sephacryl S-300 dextranase complex พบว่ามีค่า K_m app และ V_{max} app เท่ากับ 3846 ppm (dextran) และ 188 ug (reducing sugar)/min ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบวัดปริมาณ dextran ในสารละลาย พบว่า Sephacryl S-300 dextranase complex 0.002 U/reaction สามารถวัดปริมาณ dextran มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.99$) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0-1000 ppm ส่วนการศึกษาการตรึงเอนไซม์ dextranase บนแผ่น nitrocellulose ใช้เอนไซม์ dextranase จากเชื้อ *Penicillium* sp. (Sigma) เตรียมโดยจากการแยกเอนไซม์ด้วย SDS-PAGE แล้วย้ายเอนไซม์ไปสู่แผ่น nitrocellulose โดยใช้กระแสไฟฟ้า ได้ enzyme strip ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ 0.002U/strip ในสารละลาย 0.05M citrate buffer pH 5.5 ที่มี 0.625% w/v dextran T2000 บ่มที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 45 นาที เมื่อนำมาทดสอบวัดปริมาณ dextran ในสารละลาย พบว่าเอนไซม์ dextranase ที่ตรึงบนแผ่น nitrocellulose สามารถวัดปริมาณ dextran มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.994$) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0-6000 ppm จากการทดลองนี้ทั้ง Sephacryl S-300 dextranase complex และ เอนไซม์ dextranase ที่ตรึงบนแผ่น nitrocellulose สามารถวัดปริมาณ dextran ได้อาจนำไปประยุกต์ใช้ในการทำชุดตรวจสอบ dextran ที่มีประสิทธิภาพได้

คำสำคัญ: *Aspergillus* sp. X26, dextranase, dextran, enzyme strip, immobilized enzyme, sugar industry

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น จากงบประมาณทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2554 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นเป็นอย่างสูง ขอบคุณภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนสถานที่และเครื่องมือ อุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งผู้ช่วยวิจัย นายอภิชาติ คอนจันทร์ได้ นายศิวะเมษ เนตรโสภา และนายจกฤษณ์ เอี่ยมเฒ่า ที่ช่วยทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลงได้

คณะผู้วิจัย

สิงหาคม 2555

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	7
บทที่ 3 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	13
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัย	19
บรรณานุกรม	20
ภาคผนวก	

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงผลการทำปฏิกิริยาเอนไซม์ dextranase จากเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp. X26	13
ตารางที่ 2 แสดงผลที่ได้จากการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง เอนไซม์ dextranase ปริสุทธิบางส่วนจากเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp. X26 กับ dextran T2000 ด้วย glucose strip ร่วมกับ glucometer	18
ตารางที่ 3 แสดงผลการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง เอนไซม์ dextranase ปริสุทธิบางส่วนจากเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp. X26 กับ dextran T2000 Color reagent	18

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 แสดงอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาที่เวลา 0-30 นาที ของ immobilized sephacryl S-300 dextranase complex จากเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp. X26	14
รูปที่ 2 แสดงอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้น substrate ในช่วง 0-10,000 ppm ของ immobilized sephacryl S-300 dextranase complex จากเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp. X26	14
รูปที่ 3 แสดงการวัดปริมาณ dextran T2000 standard (0 – 1000 ppm) ด้วย immobilized sephacryl S-300 dextranase complex จากเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp. X26	15
รูปที่ 4 แสดงผลการตรวจวัด dextran โดยใช้ enzyme strip จากเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp. X26 ที่เตรียมโดยวิธี Air dry	15
รูปที่ 5 แสดงแถบโปรตีนของเอนไซม์ dextranase จาก <i>Penicillium</i> sp. เมื่อแยกด้วย 12% SDS-PAGE	16
รูปที่ 6 แสดงการวัดปริมาณ dextran T2000 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเอนไซม์ dextranase จาก <i>Penicillium</i> sp. ที่ตรึงบนแผ่น nitrocellulose	17