

ผลการทดลอง

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปส

เป็นการศึกษาเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายไขมันของไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงจำนวน 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท PTL36, PTL38, PTL41 และ PTL44 เพื่อคัดเลือกหาไอโซเลทที่มีกิจกรรมไลเปสสูงที่สุด เพื่อนำไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสต่อไป

1.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท

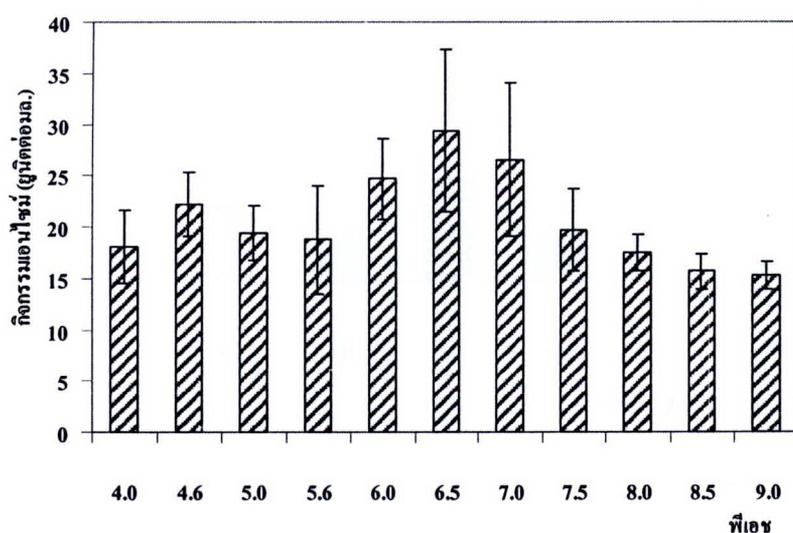
PTL36

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL36 พบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอชและอุณหภูมิเท่ากับ 6.5 และ 60 องศาเซลเซียส โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 29.38 และ 34.69 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1-2 และภาพที่ 1-2 เมื่อศึกษาผลของพีเอชต่อความคงทนของเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์มีความคงทนสูงสุดที่พีเอชเท่ากับ 6.5 โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 32.50 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 3 เมื่อบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าเอนไซม์มีความคงทนต่ออุณหภูมิสูง โดยมีกิจกรรมคงเหลือมากกว่า 69 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 24.17 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 4

ตารางที่ 1 พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิต่ำ ไอโซเลท PTL36

| พีเอช | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-------|----------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 4.0 | 15.63 | 20.63 | 18.13 | ±3.54 |
| 4.6 | 20.00 | 24.38 | 22.19 | ±3.10 |
| 5.0 | 17.50 | 21.25 | 19.38 | ±2.66 |
| 5.6 | 15.00 | 22.50 | 18.75 | ±5.30 |
| 6.0 | 21.88 | 27.50 | 24.69 | ±3.97 |
| 6.5 | 23.75 | 35.00 | 29.38 | ±7.96 |
| 7.0 | 21.25 | 31.88 | 26.57 | ±7.52 |
| 7.5 | 16.88 | 22.50 | 19.69 | ±3.97 |
| 8.0 | 16.25 | 18.75 | 17.50 | ±1.77 |
| 8.5 | 16.88 | 14.38 | 15.63 | ±1.77 |
| 9.0 | 16.25 | 14.38 | 15.32 | ±1.32 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

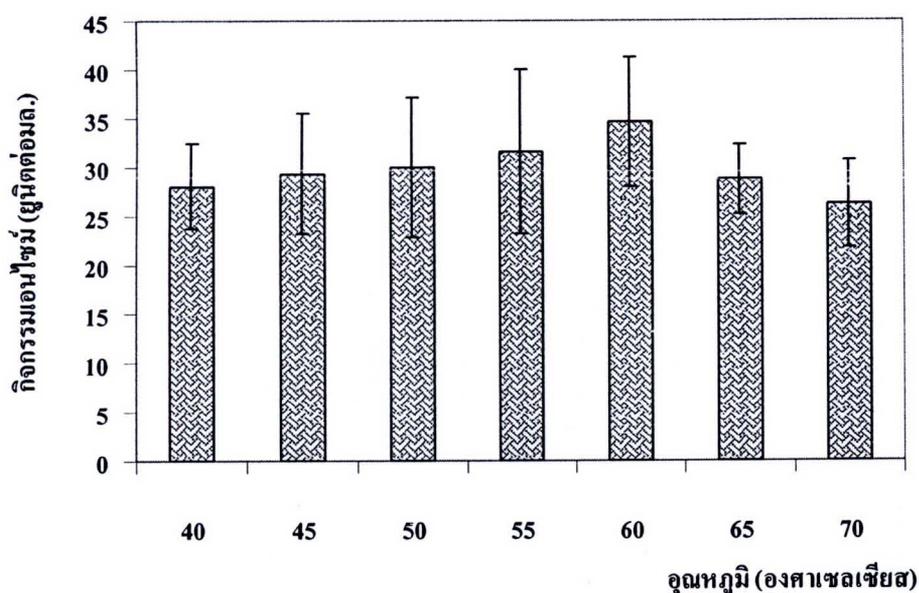


ภาพที่ 1 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิต่ำ ไอโซเลท PTL36 ที่พีเอชระดับต่างๆ

ตารางที่ 2 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL36

| อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิตร) | | | ค่า SD |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 40 | 31.25 | 25.00 | 28.13 | ±4.43 |
| 45 | 33.75 | 25.00 | 29.38 | ±6.19 |
| 50 | 35.00 | 25.00 | 30.00 | ±7.07 |
| 55 | 37.50 | 25.63 | 31.57 | ±8.4 |
| 60 | 39.38 | 30.00 | 34.69 | ±6.63 |
| 65 | 31.25 | 26.25 | 28.75 | ±3.54 |
| 70 | 29.38 | 23.13 | 26.26 | ±4.43 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด



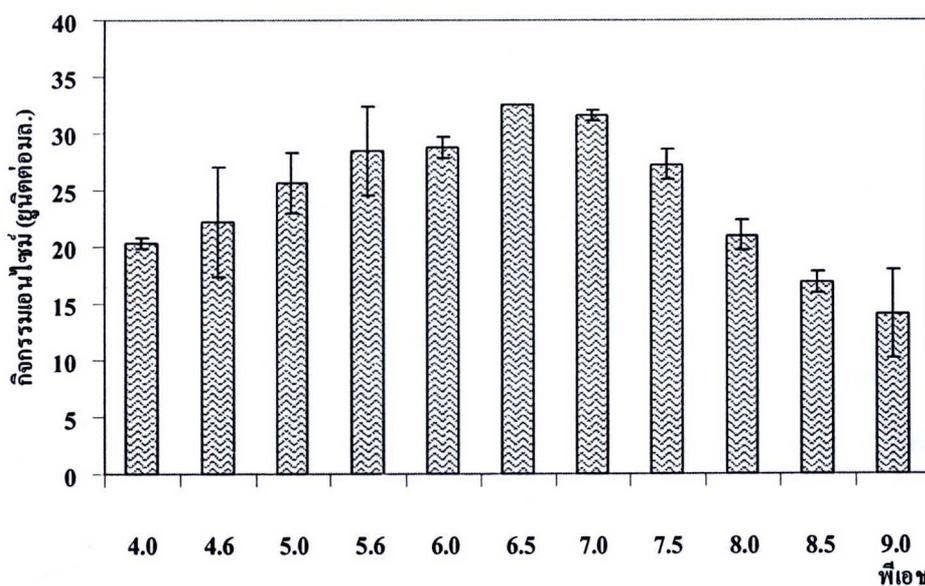
ภาพที่ 2 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL36 ที่อุณหภูมิต่างๆ



ตารางที่ 3 ความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุนหมูมิสูง ไอโซเลท PTL36 ที่พีเอช ระดับต่างๆ

| พีเอช | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-------|----------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 4.0 | 20.00 | 20.63 | 20.32 | ±0.45 |
| 4.6 | 18.75 | 25.63 | 22.19 | ±4.86 |
| 5.0 | 27.50 | 23.75 | 25.63 | ±2.66 |
| 5.6 | 25.63 | 31.25 | 28.44 | ±3.97 |
| 6.0 | 28.13 | 29.38 | 28.76 | ±0.89 |
| 6.5 | 32.50 | 32.50 | 32.50 | ±0.00 |
| 7.0 | 31.25 | 31.88 | 31.57 | ±0.45 |
| 7.5 | 28.75 | 25.63 | 27.19 | ±1.33 |
| 8.0 | 20.00 | 21.88 | 20.94 | ±1.33 |
| 8.5 | 16.25 | 17.50 | 16.88 | ±0.89 |
| 9.0 | 11.25 | 16.81 | 14.03 | ±3.93 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

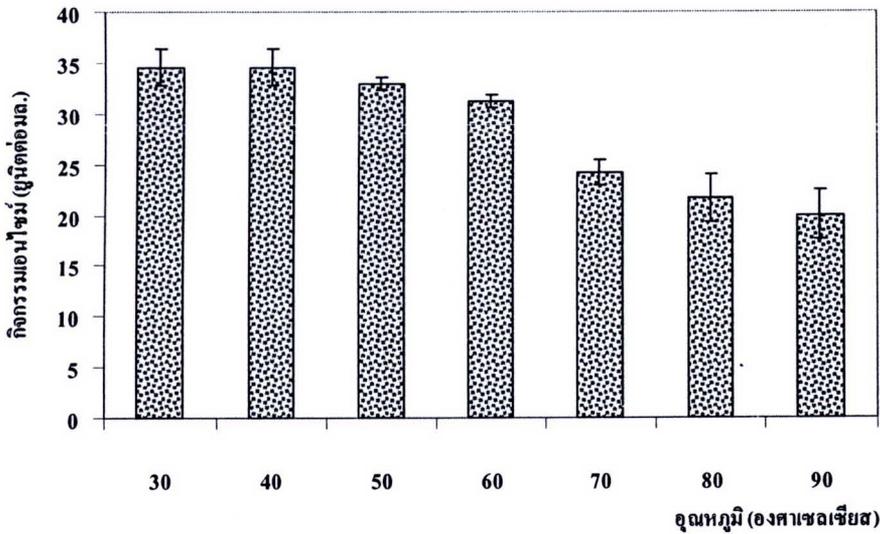


ภาพที่ 3 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุนหมูมิสูง ไอโซเลท PTL36 หลังการบ่มด้วยบัฟเฟอร์ ที่พีเอชระดับต่างๆ เป็นเวลา 60 นาที

ตารางที่ 4 ความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL36 ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ

| อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|--------------------------------|----------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 30 | 33.33 | 35.83 | 34.58 | ±1.77 |
| 40 | 33.33 | 35.83 | 34.58 | ±1.77 |
| 50 | 33.33 | 32.50 | 32.92 | ±0.58 |
| 60 | 31.67 | 30.83 | 31.25 | ±0.59 |
| 70 | 23.33 | 25.00 | 24.17 | ±1.19 |
| 80 | 20.00 | 23.33 | 21.67 | ±2.36 |
| 90 | 18.33 | 21.67 | 20.00 | ±2.36 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด



ภาพที่ 4 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL36 หลังการบ่มที่อุณหภูมิระดับต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

1.2 สภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท

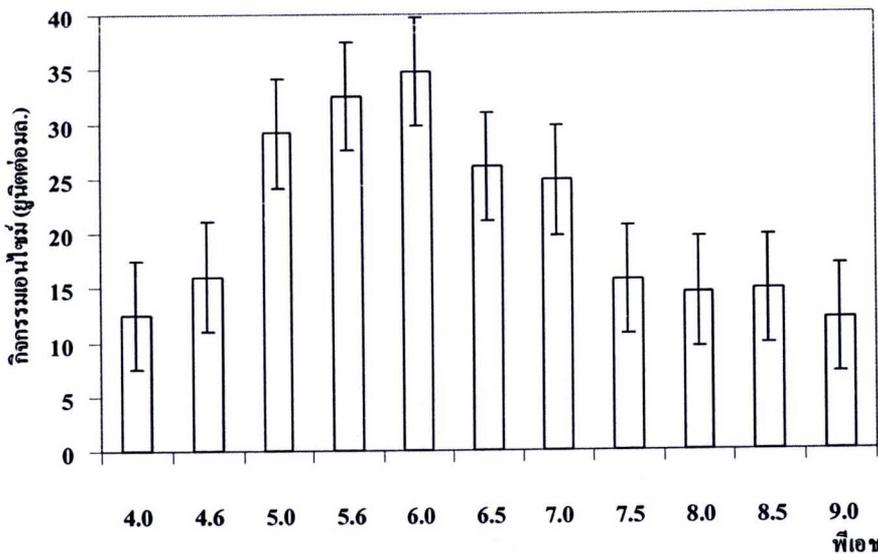
PTL38

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL38 พบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอชและอุณหภูมิเท่ากับ 6.0 และ 60 องศาเซลเซียส โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 34.75 และ 36.65 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5-6 และภาพที่ 5-6 เมื่อศึกษาผลของพีเอชต่อความคงทนของเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์มีความคงทนสูงสุดที่พีเอชเท่ากับ 7.0 โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 39.13 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 7 เมื่อปัมเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าเอนไซม์มีความคงทนต่ออุณหภูมิสูง โดยมีกิจกรรมคงเหลือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 34.12 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 8 และภาพที่ 8

ตารางที่ 5 พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุนหมูมิสูงไอโซเลท PTL38

| พีเอช | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิเมตร) | | | ค่า SD |
|-------|----------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 4.0 | 13.75 | 11.25 | 12.50 | ±1.77 |
| 4.6 | 18.25 | 13.75 | 16.00 | ±3.18 |
| 5.0 | 25.00 | 33.25 | 29.13 | ±5.83 |
| 5.6 | 31.25 | 33.75 | 32.50 | ±1.77 |
| 6.0 | 35.75 | 33.75 | 34.75 | ±1.41 |
| 6.5 | 22.00 | 30.00 | 26.00 | ±5.66 |
| 7.0 | 29.50 | 20.00 | 24.75 | ±6.72 |
| 7.5 | 12.50 | 18.75 | 15.63 | ±4.42 |
| 8.0 | 15.75 | 13.25 | 14.50 | ±1.77 |
| 8.5 | 13.75 | 15.75 | 14.75 | ±1.41 |
| 9.0 | 14.50 | 9.50 | 12.00 | ±3.54 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

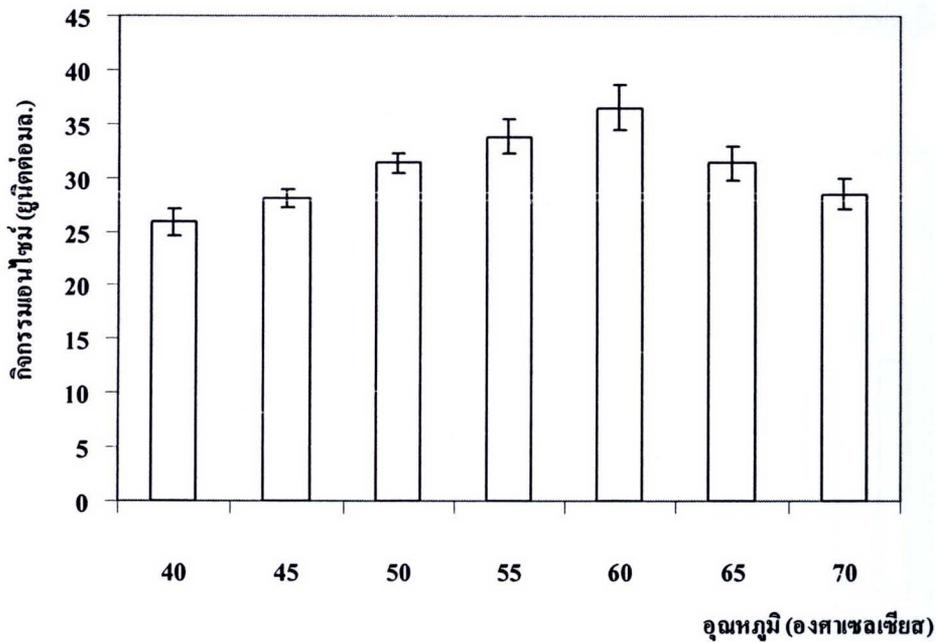


ภาพที่ 5 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุนหมูมิสูง ไอโซเลท PTL38 ที่พีเอชระดับต่างๆ

ตารางที่ 6 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงไอโซเลท PTL38

| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมิลลิตร) | | | ค่า SD |
|----------------------------|------------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 40 | 26.75 | 25.00 | 25.88 | ±1.24 |
| 45 | 28.75 | 27.50 | 28.13 | ±0.88 |
| 50 | 30.75 | 32.00 | 31.38 | ±0.88 |
| 55 | 32.75 | 35.00 | 33.88 | ±1.59 |
| 60 | 38.00 | 35.00 | 36.50 | ±2.12 |
| 65 | 30.25 | 32.50 | 31.38 | ±1.59 |
| 70 | 29.50 | 27.50 | 28.50 | ±1.41 |

1 ยูนิต์ของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

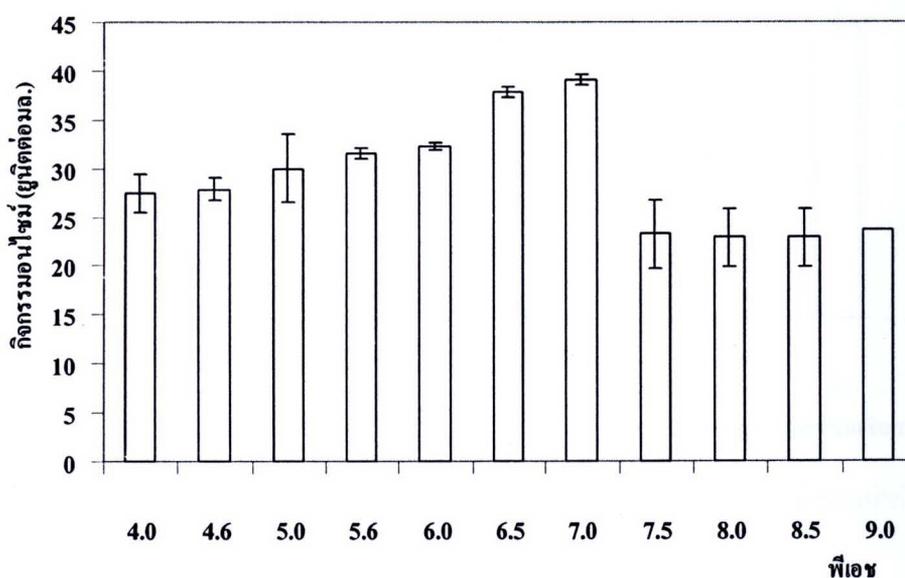


ภาพที่ 6 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL38 ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ

ตารางที่ 7 ความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL38 ที่พีเอช ระดับต่างๆ

| พีเอช | กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-------|--------------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 4.0 | 26.00 | 28.75 | 27.38 | ±1.94 |
| 4.6 | 28.75 | 27.00 | 27.88 | ±1.24 |
| 5.0 | 32.50 | 27.50 | 30.00 | ±3.54 |
| 5.6 | 31.25 | 32.00 | 31.63 | ±0.53 |
| 6.0 | 32.50 | 32.00 | 32.25 | ±0.35 |
| 6.5 | 37.50 | 38.25 | 37.88 | ±0.53 |
| 7.0 | 39.50 | 38.75 | 39.13 | ±0.53 |
| 7.5 | 25.75 | 20.75 | 23.25 | ±3.54 |
| 8.0 | 20.75 | 25.00 | 22.88 | ±3.01 |
| 8.5 | 25.00 | 20.75 | 22.88 | ±3.01 |
| 9.0 | 23.75 | 23.75 | 23.75 | ±0.00 |

1 ยูนิต์ของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

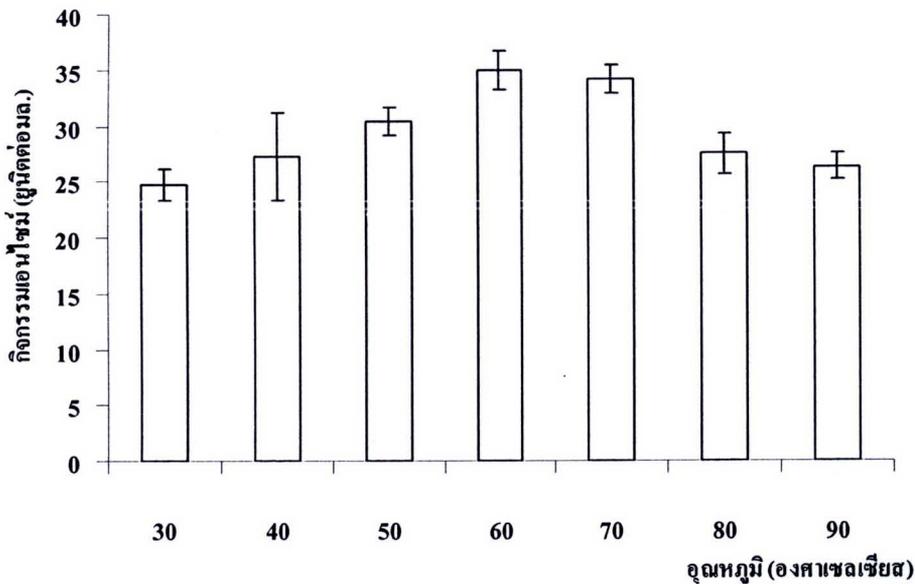


ภาพที่ 7 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL38 หลังการบ่มด้วยบัฟเฟอร์ ที่พีเอชระดับต่างๆ เป็นเวลา 60 นาที

ตารางที่ 8 ความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL38 ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ

| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|----------------------------|------------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 30 | 23.75 | 25.75 | 24.75 | ±1.41 |
| 40 | 24.50 | 30.00 | 27.25 | ±3.89 |
| 50 | 29.50 | 31.25 | 30.38 | ±1.24 |
| 60 | 36.25 | 33.75 | 35.00 | ±1.77 |
| 70 | 35.00 | 33.25 | 34.13 | ±1.24 |
| 80 | 28.75 | 26.25 | 27.50 | ±1.77 |
| 90 | 25.50 | 27.23 | 26.37 | ±1.22 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด



ภาพที่ 8 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL38 หลังการบ่มที่อุณหภูมิระดับต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

1.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงไอโซเลท

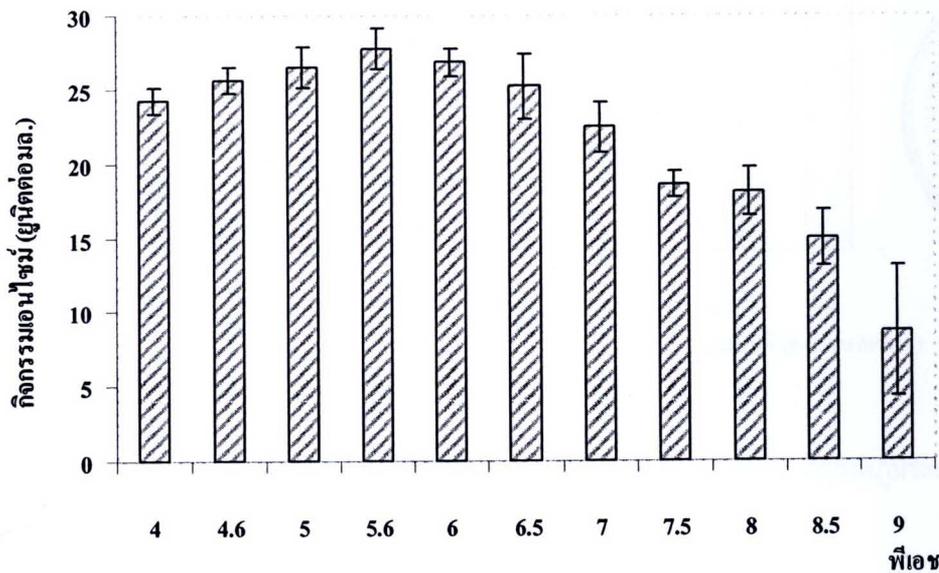
PTL41

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL41 พบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอชและอุณหภูมิเท่ากับ 5.6 และ 50 องศาเซลเซียส โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 27.75 และ 29.07 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9-10 และภาพที่ 9-10 เมื่อศึกษาผลของพีเอชต่อความคงทนของเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์มีความคงทนสูงสุดที่พีเอชเท่ากับ 7.0 โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 27.51 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 11 และภาพที่ 11 เมื่อบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าเอนไซม์มีความคงทนต่ออุณหภูมิสูง โดยมีกิจกรรมคงเหลือมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 20.83 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 12 และภาพที่ 12

ตารางที่ 9 พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอณูภูมิสูง ไอโซเลท PTL41

| พีเอช | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-------|----------------------------------|----------------------|--------|--------|
| | ผลการทดลองครั้งที่ 1 | ผลการทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 4.0 | 24.88 | 23.63 | 24.26 | ±0.88 |
| 4.6 | 26.25 | 25 | 25.63 | ±0.88 |
| 5.0 | 27.5 | 25.5 | 26.5 | ±1.41 |
| 5.6 | 28.75 | 26.75 | 27.75 | ±1.41 |
| 6.0 | 27.5 | 26.13 | 26.82 | ±0.97 |
| 6.5 | 26.75 | 23.63 | 25.19 | ±2.21 |
| 7.0 | 21.25 | 23.63 | 22.44 | ±1.68 |
| 7.5 | 18 | 19.25 | 18.63 | ±0.88 |
| 8.0 | 19.25 | 16.88 | 18.07 | ±1.68 |
| 8.5 | 13.63 | 16.25 | 14.94 | ±1.85 |
| 9.0 | 5.5 | 11.75 | 8.63 | ±4.42 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

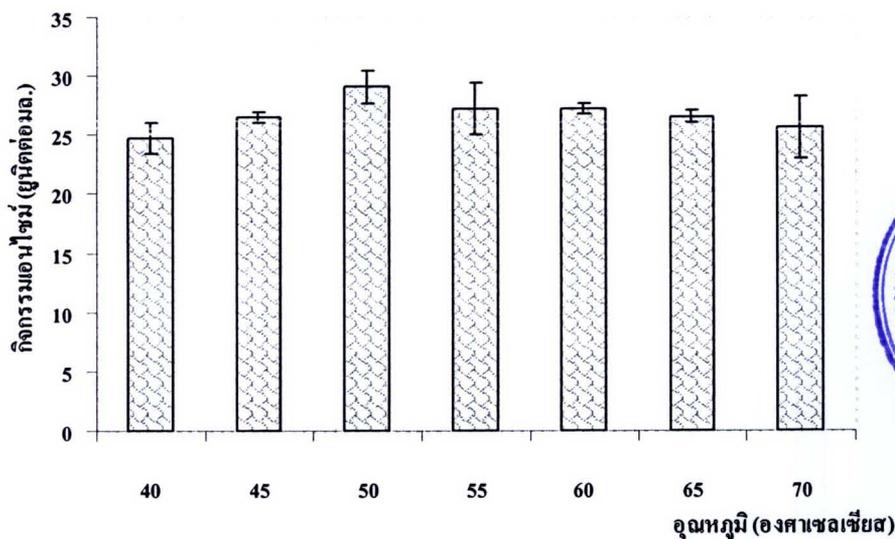


ภาพที่ 9 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอณูภูมิสูง ไอโซเลท PTL41 ที่พีเอชระดับต่างๆ

ตารางที่ 10 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงไอโซเลท PTL41

| อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิตร) | | | ค่า SD |
|--------------------------------|--------------------------------|----------------------|--------|--------|
| | ผลการทดลองครั้งที่ 1 | ผลการทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 40 | 25.63 | 23.76 | 24.70 | ±1.32 |
| 45 | 26.26 | 26.88 | 26.57 | ±0.44 |
| 50 | 30.01 | 28.13 | 29.07 | ±1.33 |
| 55 | 28.76 | 25.63 | 27.20 | ±2.21 |
| 60 | 27.5 | 26.88 | 27.19 | ±0.44 |
| 65 | 26.88 | 26.25 | 26.57 | ±0.45 |
| 70 | 27.5 | 23.75 | 25.63 | ±2.65 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

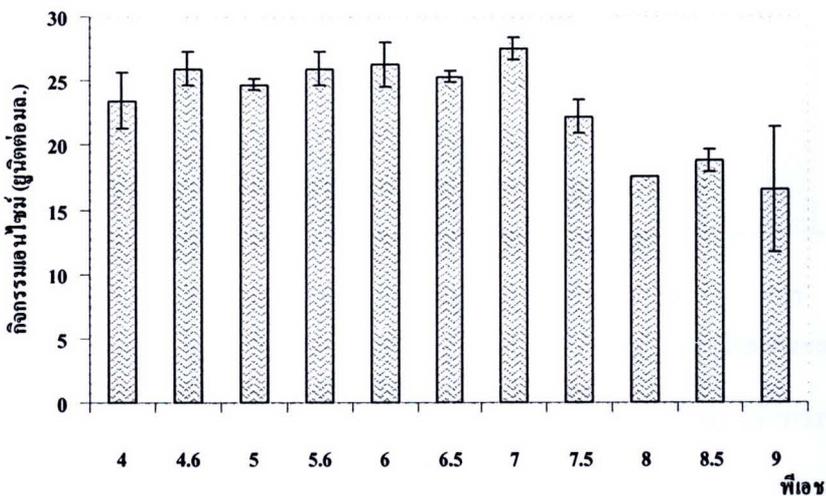


ภาพที่ 10 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL41 ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ

ตารางที่ 11 ความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอณูหมีสสูง ไอโซเลท PTL41 ที่พีเอช ระดับต่างๆ

| พีเอช | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-------|----------------------------------|----------------------|--------|--------|
| | ผลการทดลองครั้งที่ 1 | ผลการทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 4.0 | 21.88 | 25.00 | 23.44 | ±2.21 |
| 4.6 | 26.88 | 25.00 | 25.94 | ±1.33 |
| 5.0 | 24.38 | 25.00 | 24.69 | ±0.44 |
| 5.6 | 26.88 | 25.00 | 25.94 | ±1.33 |
| 6.0 | 27.5 | 25.00 | 26.25 | ±1.77 |
| 6.5 | 25.63 | 25.00 | 25.32 | ±0.45 |
| 7.0 | 28.13 | 26.88 | 27.51 | ±0.88 |
| 7.5 | 23.13 | 21.25 | 22.19 | ±1.33 |
| 8.0 | 17.51 | 17.50 | 17.51 | ±0.01 |
| 8.5 | 18.13 | 19.38 | 18.76 | ±0.88 |
| 9.0 | 13.13 | 20.00 | 16.57 | ±4.86 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

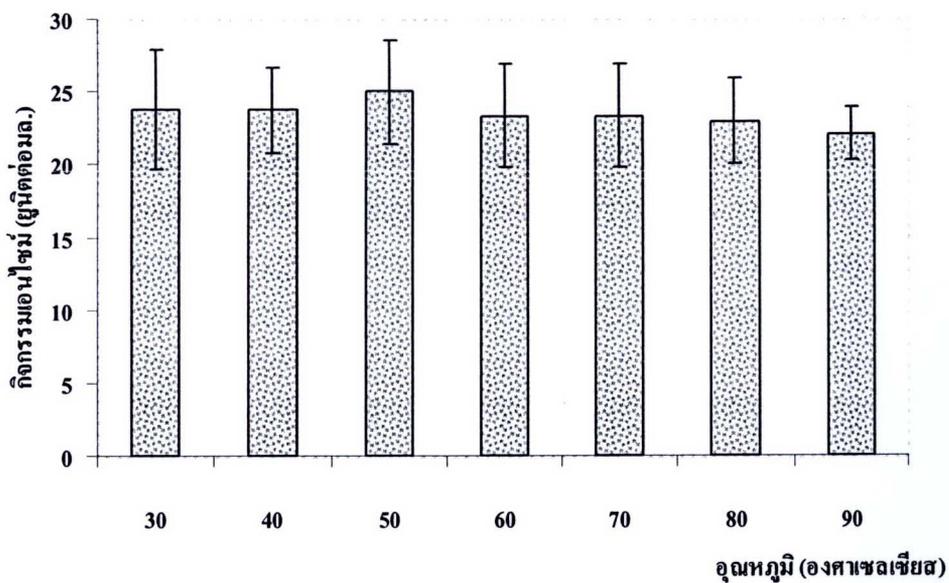


ภาพที่ 11 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอณูหมีสสูง ไอโซเลท PTL41 หลังการบ่มด้วย บัฟเฟอร์ที่พีเอชระดับต่างๆ เป็นเวลา 60 นาที

ตารางที่ 12 ความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL41 ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ

| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิเมตร) | | | ค่า SD |
|-------------------------|----------------------------------|----------------------|--------|--------|
| | ผลการทดลองครั้งที่ 1 | ผลการทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 30 | 26.67 | 20.84 | 23.76 | ±4.12 |
| 40 | 25.83 | 21.67 | 23.75 | ±2.94 |
| 50 | 27.50 | 22.50 | 25.00 | ±3.54 |
| 60 | 25.83 | 20.84 | 23.34 | ±3.53 |
| 70 | 25.84 | 20.83 | 23.34 | ±3.54 |
| 80 | 25.00 | 20.84 | 22.92 | ±2.94 |
| 90 | 23.34 | 20.83 | 22.09 | ±1.77 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด



ภาพที่ 12 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL41 หลังการบ่มที่อุณหภูมิระดับต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

1.4 สภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท

PTL44

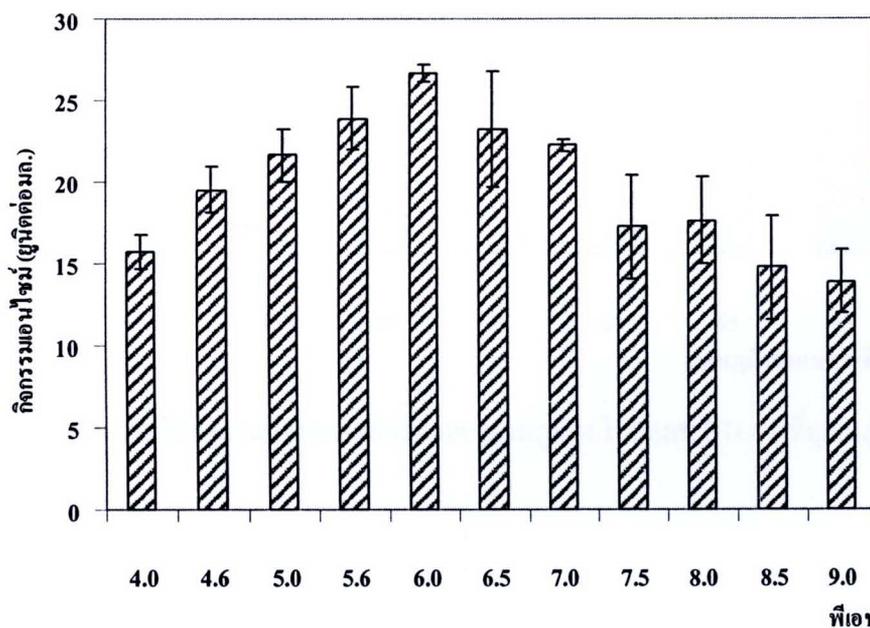
จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL44 พบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอชและอุณหภูมิเท่ากับ 6.0 และ 60 องศาเซลเซียส โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 26.63 และ 34.13 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 13-14 และภาพที่ 13-14 เมื่อศึกษาผลของพีเอชต่อความคงทนของเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์มีความคงทนสูงสุดที่พีเอชเท่ากับ 6.0 โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 33.63 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 15 และภาพที่ 15 เมื่อบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าเอนไซม์มีความคงทนต่ออุณหภูมิสูง โดยมีกิจกรรมคงเหลือมากกว่า 55 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 18.88 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 16 และภาพที่ 16

เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมไลเปสของแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงทั้งสี่ไอโซเลท ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียไอโซเลท PTL38 เป็นแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic bacteria) ที่สามารถสังเคราะห์ไลเปส (lipase-producing bacteria) ที่มีกิจกรรมไลเปสสูงและมีความคงทนต่อช่วงสภาวะที่เป็นกรดและอุณหภูมิสูงกว่าแบคทีเรียไอโซเลท PTL 36, PTL 41 และ PTL 44 ดังแสดงในตารางที่ 17 และภาพที่ 17 ซึ่งมีประโยชน์ในการนำเอนไซม์นี้ไปประยุกต์ใช้ในการย่อยสลายไขมันในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการปนเปื้อนไขมันสูงมีระดับพีเอชต่ำและอุณหภูมิสูงได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงคัดเลือกไอโซเลท PTL 38 ในการศึกษาทดลองต่อไป

ตารางที่ 13 พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL44

| พีเอช | กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-------|-------------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 4.0 | 15.00 | 16.50 | 15.75 | ±1.06 |
| 4.6 | 18.50 | 20.50 | 19.50 | ±1.41 |
| 5.0 | 20.50 | 22.75 | 21.63 | ±1.59 |
| 5.6 | 22.50 | 25.25 | 23.88 | ±1.94 |
| 6.0 | 26.25 | 27.00 | 26.63 | ±0.53 |
| 6.5 | 20.75 | 25.75 | 23.25 | ±3.54 |
| 7.0 | 22.00 | 22.50 | 22.25 | ±0.35 |
| 7.5 | 15.00 | 19.50 | 17.25 | ±3.18 |
| 8.0 | 15.75 | 19.50 | 17.63 | ±2.65 |
| 8.5 | 12.50 | 17.00 | 14.75 | ±3.18 |
| 9.0 | 15.25 | 12.50 | 13.88 | ±1.94 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

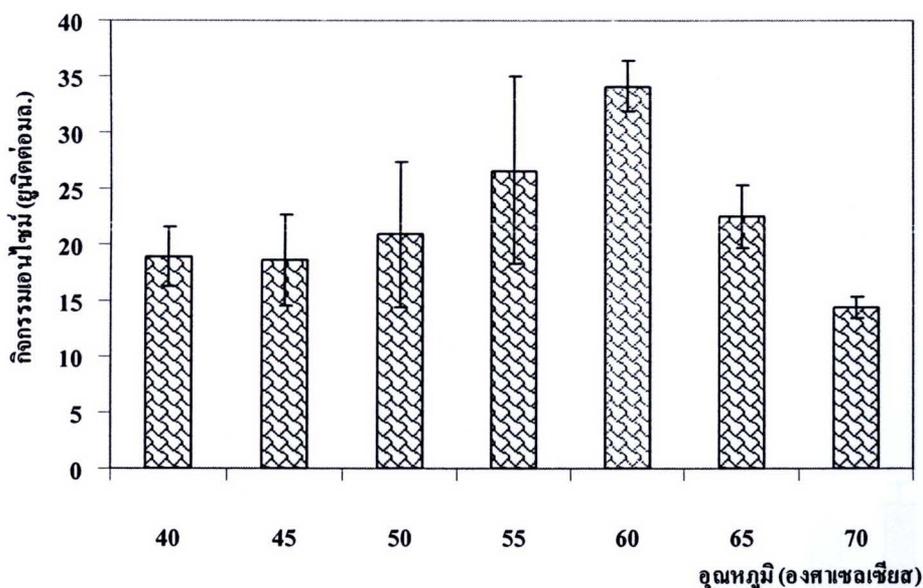


ภาพที่ 13 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL44 ที่พีเอชระดับต่างๆ

ตารางที่ 14 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงไอโซเลท PTL44

| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|----------------------------|------------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 40 | 20.75 | 17.00 | 18.88 | ±2.65 |
| 45 | 21.50 | 15.75 | 18.63 | ±4.07 |
| 50 | 25.50 | 16.25 | 20.88 | ±6.54 |
| 55 | 32.50 | 20.75 | 26.63 | ±8.31 |
| 60 | 35.75 | 32.50 | 34.13 | ±2.30 |
| 65 | 24.50 | 20.50 | 22.50 | ±2.83 |
| 70 | 13.75 | 15.00 | 14.38 | ±0.88 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

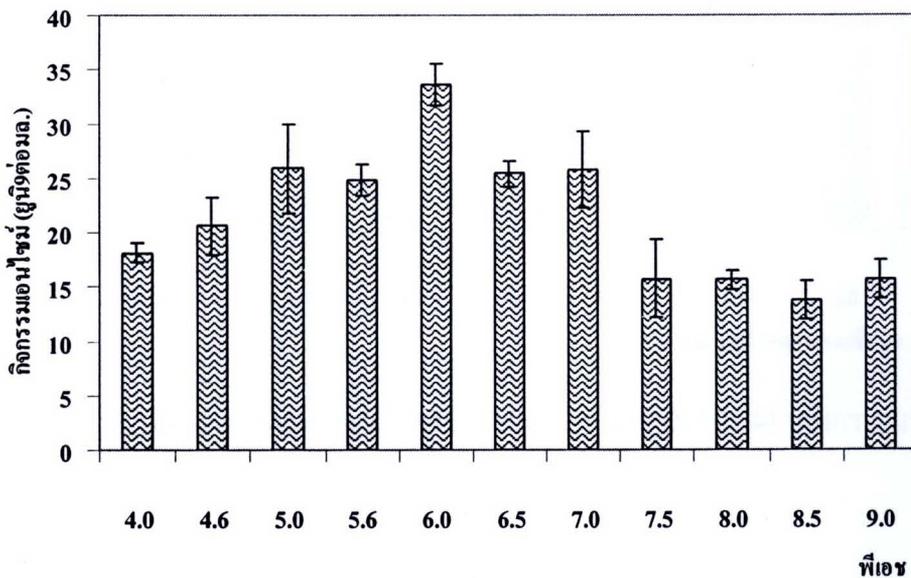


ภาพที่ 14 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL44 ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ

ตารางที่ 15 ความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอณูทมิสูง ไอโซเลท PTL44 ที่พีเอช ระดับต่างๆ

| พีเอช | กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-------|------------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 4.0 | 18.75 | 17.50 | 18.13 | ±0.88 |
| 4.6 | 22.50 | 18.75 | 20.63 | ±2.65 |
| 5.0 | 23.00 | 28.75 | 25.88 | ±4.07 |
| 5.6 | 23.75 | 25.75 | 24.75 | ±1.41 |
| 6.0 | 32.25 | 35.00 | 33.63 | ±1.94 |
| 6.5 | 24.50 | 26.25 | 25.38 | ±1.24 |
| 7.0 | 28.25 | 23.25 | 25.75 | ±3.54 |
| 7.5 | 13.25 | 18.25 | 15.75 | ±3.54 |
| 8.0 | 15.00 | 16.25 | 15.63 | ±0.88 |
| 8.5 | 12.50 | 15.00 | 13.75 | ±1.77 |
| 9.0 | 14.50 | 17.00 | 15.75 | ±1.77 |

1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

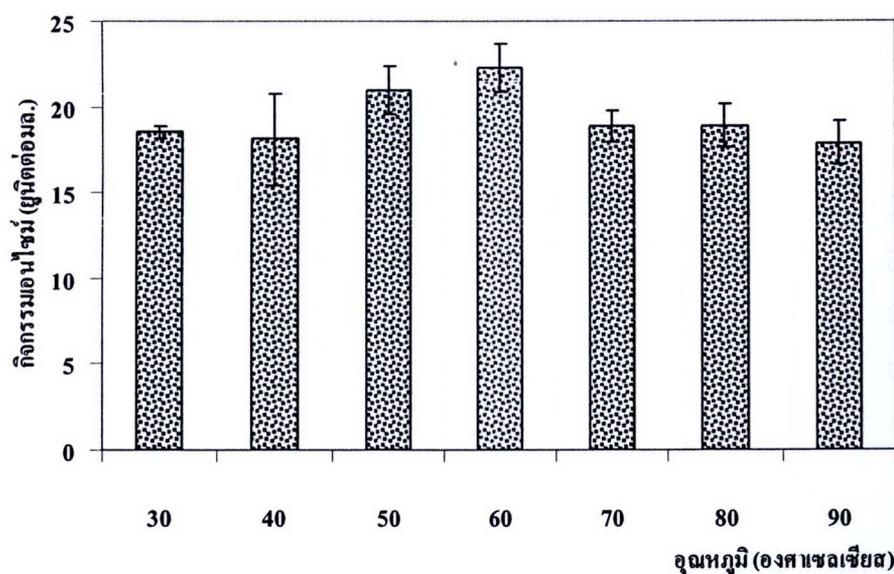


ภาพที่ 15 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอณูทมิสูง ไอโซเลท PTL44 หลังการบ่มด้วย บัฟเฟอร์ที่พีเอชระดับต่างๆ เป็นเวลา 60 นาที

ตารางที่ 16 ความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL44 ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ

| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|----------------------------|-------------------------------------|--------------------|--------|--------|
| | การทดลองครั้งที่ 1 | การทดลองครั้งที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 30 | 18.75 | 18.25 | 18.50 | ±0.35 |
| 40 | 20.00 | 16.25 | 18.13 | ±2.65 |
| 50 | 20.00 | 22.00 | 21.00 | ±1.41 |
| 60 | 21.25 | 23.25 | 22.25 | ±1.41 |
| 70 | 19.50 | 18.25 | 18.88 | ±0.88 |
| 80 | 18.00 | 19.75 | 18.88 | ±1.24 |
| 90 | 17.00 | 18.75 | 17.88 | ±1.24 |

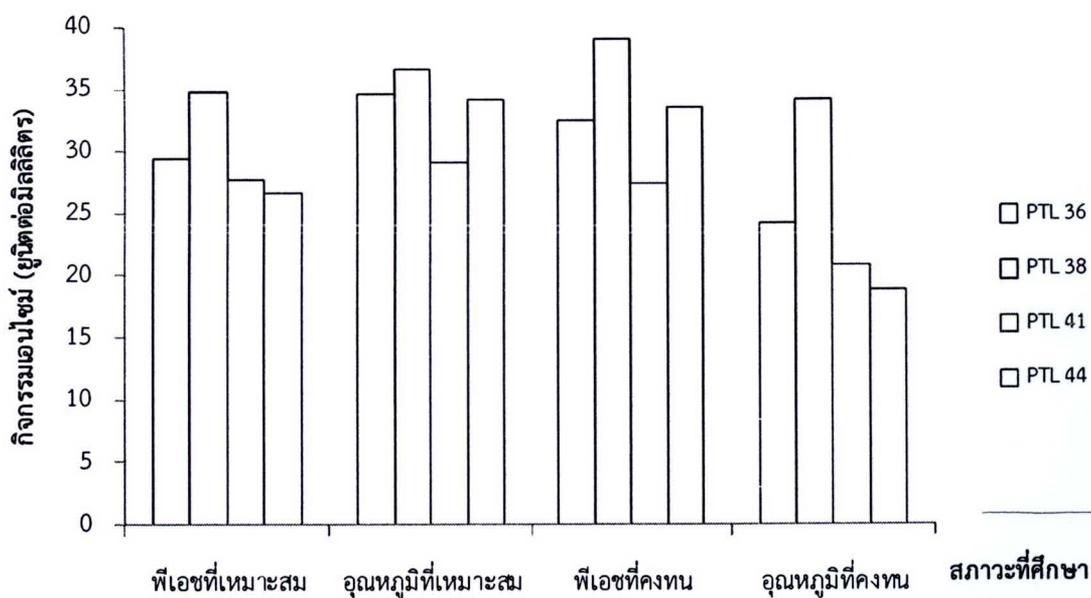
1 ยูนิตของเอนไซม์หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกให้ได้กรดไขมันที่อยู่ในรูป oleic acid ปริมาตร 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 20 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด



ภาพที่ 16 กิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูง ไอโซเลท PTL44 หลังการบ่มที่อุณหภูมิระดับต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 17 สรุปสถานะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมการย่อยสลายไขมันและความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงทั้งสี่ไอโซเลท

| สายพันธุ์ | พีเอชที่เหมาะสม | กิจกรรมเอนไซม์ (U/ml) | อุณหภูมิที่เหมาะสม (°C) | กิจกรรมเอนไซม์ (U/ml) | พีเอชที่คงทน | กิจกรรมเอนไซม์ (U/ml) | อุณหภูมิที่คงทน (°C) | กิจกรรมเอนไซม์ (U/ml) | กิจกรรมเอนไซม์ คงเหลือ (%) |
|-----------|-----------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|--------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|
| PTL 36 | 6.5 | 29.38 | 60 | 34.69 | 6.5 | 32.5 | 70 | 24.17 | 69.67 |
| PTL 38 | 6.0 | 34.75 | 60 | 36.65 | 7.0 | 39.13 | 70 | 34.13 | 93.12 |
| PTL 41 | 5.6 | 27.75 | 50 | 29.07 | 7.0 | 27.51 | 70 | 20.83 | 71.65 |
| PTL 44 | 6.0 | 26.63 | 60 | 34.13 | 6.0 | 33.63 | 70 | 18.88 | 55.32 |



ภาพที่ 17 สภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมการย่อยสลายไขมันและความคงทนของไลเปสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงทั้งสี่ไอโซเลท

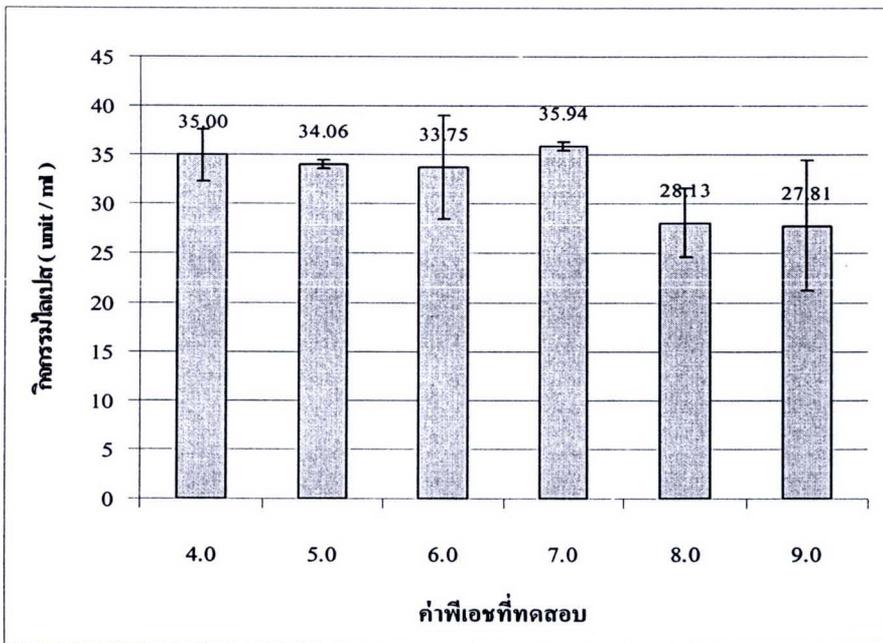


2.1) พีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม

จากการศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตไลเปส โดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 (thermophilic lipase-producing bacteria) โดยปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 ด้วย 0.1 M HCL หรือ 0.1 M NaOH เลี้ยงใน enrichment medium B โดยปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับต่าง ๆ กัน และบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 18 และภาพที่ 18 พบว่ากิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชเท่ากับ 7.0 มีกิจกรรมไลเปสสูงสุด คือ 35.94 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ พีเอช 4.0, 5.0, 6.0, 8.0 และ 9.0 ตามลำดับ ซึ่งมีกิจกรรมไลเปสเท่ากับ 35.00, 34.06, 33.75, 28.13 และ 27.81 หน่วย ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าที่พีเอช 7.0 เป็นพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38

ตารางที่ 18 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับค่าพีเอชในระดับต่าง ๆ บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| พีเอช | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-------|----------------------------------|---------------|-----------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | ค่าเฉลี่ย | |
| 4.0 | 33.13 | 36.88 | 35.00 | ±2.65 |
| 5.0 | 34.38 | 33.75 | 34.06 | ±0.44 |
| 6.0 | 30.00 | 37.50 | 33.75 | ±5.30 |
| 7.0 | 35.63 | 36.25 | 35.94 | ±0.44 |
| 8.0 | 25.63 | 30.63 | 28.13 | ±3.54 |
| 9.0 | 23.13 | 32.50 | 27.81 | ±6.63 |



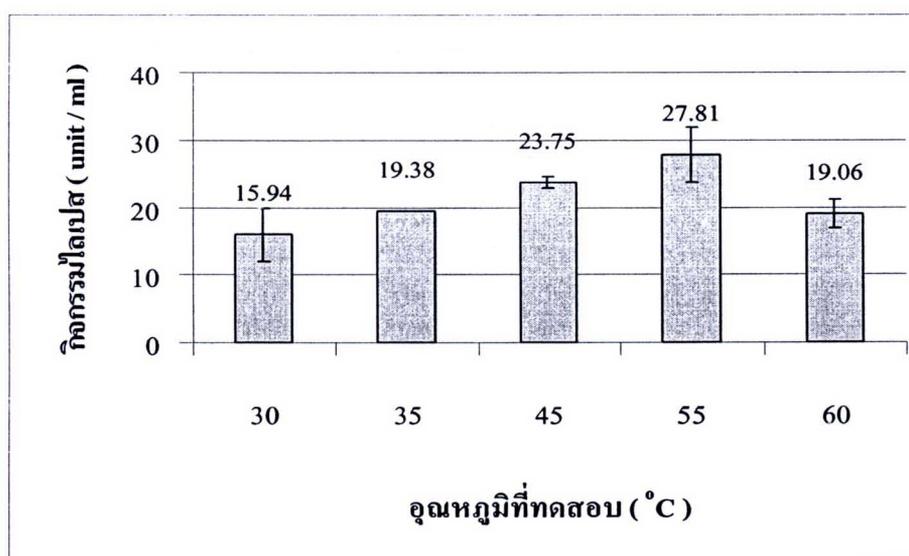
ภาพที่ 18 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับค่าพีเอชในระดับต่าง ๆ

2.2) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

จากการศึกษาค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 โดยเลี้ยงใน enrichment medium B ที่ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 และบ่มที่อุณหภูมิระดับต่าง ๆ กัน จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 19 และภาพที่ 19 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ใน enrichment medium B ที่ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เชื้อสามารถสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมสูงสุด เท่ากับ 27.81 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือเมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 45, 35, 60 และ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งมีกิจกรรมไลเปสดังนี้ 23.75, 19.38, 19.06, 15.94 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 เพื่อการผลิตไลเปส

ตารางที่ 19 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิระดับต่าง ๆ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| อุณหภูมิ (°C) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|------------------|----------------------------------|---------------|-----------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | ค่าเฉลี่ย | |
| 30 | 18.75 | 13.13 | 15.94 | ±3.98 |
| 35 | 19.38 | 19.38 | 19.38 | ±0.00 |
| 45 | 23.13 | 24.38 | 23.75 | ±0.88 |
| 55 | 25.00 | 30.63 | 27.81 | ±3.98 |
| 60 | 20.63 | 17.50 | 19.06 | ±2.21 |



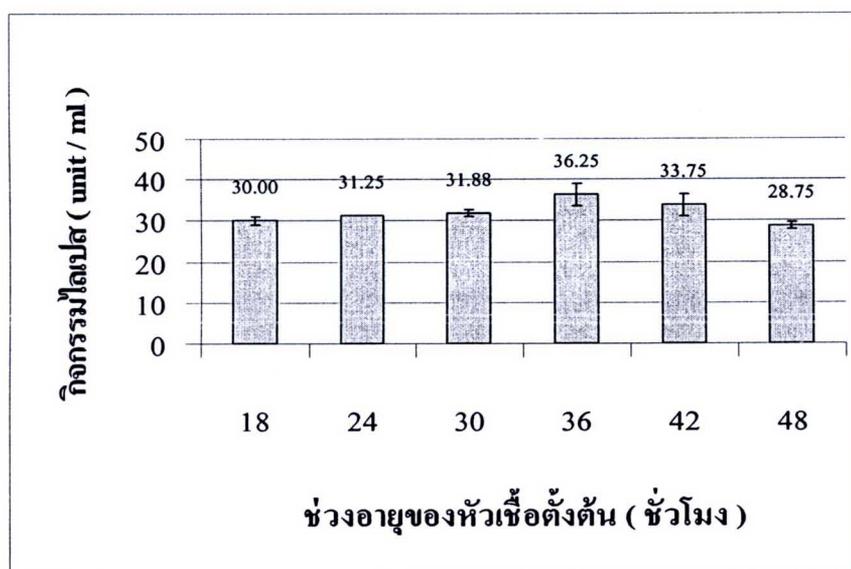
ภาพที่ 19 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิระดับต่าง ๆ

2.3) ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสม

จากการศึกษาช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิตั้งที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 โดยใช้ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 18, 24, 30, 36, 42 และ 48 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงใน enrichment medium B โดยมีพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 และบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 20 และภาพที่ 20 พบว่าแบคทีเรียชอบอุณหภูมิตั้งที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 สามารถสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมสูงสุด เมื่อใช้หัวเชื้ออายุ 36 ชั่วโมง เป็นหัวเชื้อตั้งต้น โดยให้กิจกรรมไลเปสสูงสุด เท่ากับ 36.25 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือหัวเชื้ออายุ 42, 30, 24, 18 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งมีกิจกรรมไลเปสเท่ากับ 33.75, 31.88, 31.25, 30.00 และ 28.75 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าหัวเชื้ออายุ 36 ชั่วโมง เป็นช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมเพื่อการผลิตไลเปส

ตารางที่ 20 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 โดยใช้ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้นต่างๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้น (ชั่วโมง) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|---|----------------------------------|---------------|-----------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | ค่าเฉลี่ย | |
| 18 | 29.38 | 30.63 | 30.00 | ±0.88 |
| 24 | 31.25 | 31.25 | 31.25 | ±0.00 |
| 30 | 32.50 | 31.25 | 31.88 | ±0.88 |
| 36 | 34.38 | 38.13 | 36.25 | ±2.65 |
| 42 | 31.88 | 35.63 | 33.75 | ±2.65 |
| 48 | 28.13 | 29.38 | 28.75 | ±0.88 |



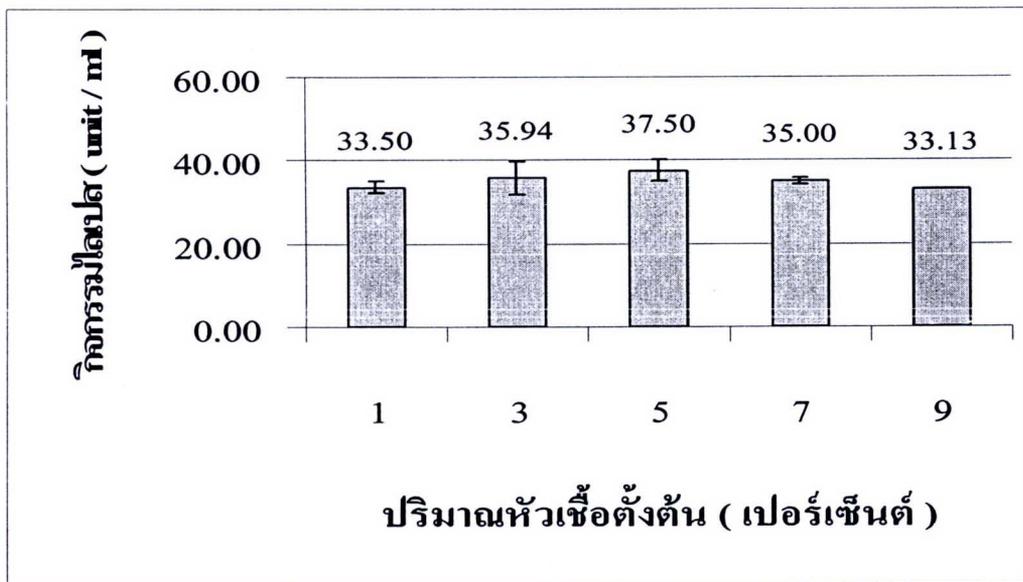
ภาพที่ 20 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 โดยใช้ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้นต่างๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.4) ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสม

จากการศึกษาปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิต่ำที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสม 1.0, 3.0, 5.0, 7.0 และ 9.0 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงใน enrichment medium B โดยมีพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 และบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงดังแสดงในตารางที่ 21 และภาพที่ 21 พบว่าเมื่อใช้หัวเชื้อเริ่มต้นอายุ 36 ชั่วโมง ในปริมาณ 5.0 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เชื้อสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมสูงสุดเท่ากับ 37.50 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือปริมาณหัวเชื้อเท่ากับ 3.0, 7.0, 1.0 และ 9.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเชื้อสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมเท่ากับ 35.94, 35.00, 33.50 และ 33.13 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าที่ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมที่ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิต่ำ ไอโซเลท PTL38 เพื่อการผลิตไลเปส

ตารางที่ 21 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ที่มีอายุของหัวเชื้อตั้งต้นที่ 36 ชั่วโมง โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่ระดับต่างๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น (เปอร์เซ็นต์) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|--|----------------------------------|---------------|-----------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | ค่าเฉลี่ย | |
| 1.0 | 32.50 | 34.50 | 33.50 | ±1.41 |
| 3.0 | 33.13 | 38.75 | 35.94 | ±3.98 |
| 5.0 | 35.63 | 39.38 | 37.50 | ±2.65 |
| 7.0 | 34.38 | 35.63 | 35.00 | ±0.88 |
| 9.0 | 33.13 | 33.13 | 33.13 | ±0.00 |



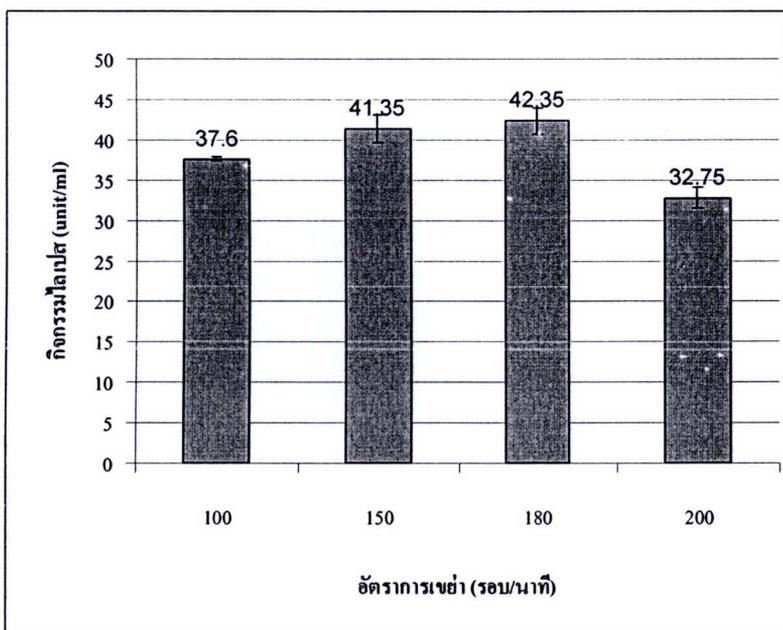
ภาพที่ 21 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ที่มีอายุของหัวเชื้อตั้งต้นที่ 36 ชั่วโมง โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่ระดับต่างๆ

2.5) อัตราการเขย่าให้อากาศที่เหมาะสม

จากการศึกษาอัตราการเขย่าที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิตั้งแต่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส โดยใช้ไขมันมะกอกเป็นสับสเตรท และมีระดับความเข้มข้นของสับสเตรท เท่ากับ 2.5 % v/v พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว (รอบต่อนาที) ที่ต่างๆ กัน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 22 และภาพที่ 22 พบว่าแบคทีเรียชอบอุณหภูมิตั้งแต่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส สามารถสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที โดยให้กิจกรรมสูงสุดเท่ากับ 42.35 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 150, 100 และ 200 รอบต่อนาที ตามลำดับ ซึ่งมีกิจกรรมไลเปสเท่ากับ 41.35, 37.60 และ 32.75 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าที่อัตราการเขย่า 180 รอบต่อนาที เป็นอัตราการเขย่าที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิตั้งแต่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส เพื่อการผลิตไลเปส

ตารางที่ 22 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ไขมันมะกอกเป็นสับสเตรท, ระดับความเข้มข้นของสับสเตรทเท่ากับ 2.5 % v/v ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว (รอบต่อนาที) ที่ระดับต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| อัตราการเขย่า (รอบ/นาที) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|-----------------------------|----------------------------------|---------------|--------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 100 | 37.8 | 37.4 | 37.60 | ±0.28 |
| 150 | 42.6 | 40.1 | 41.35 | ±1.77 |
| 180 | 43.5 | 41.2 | 42.35 | ±1.63 |
| 200 | 33.7 | 31.8 | 32.75 | ±1.34 |



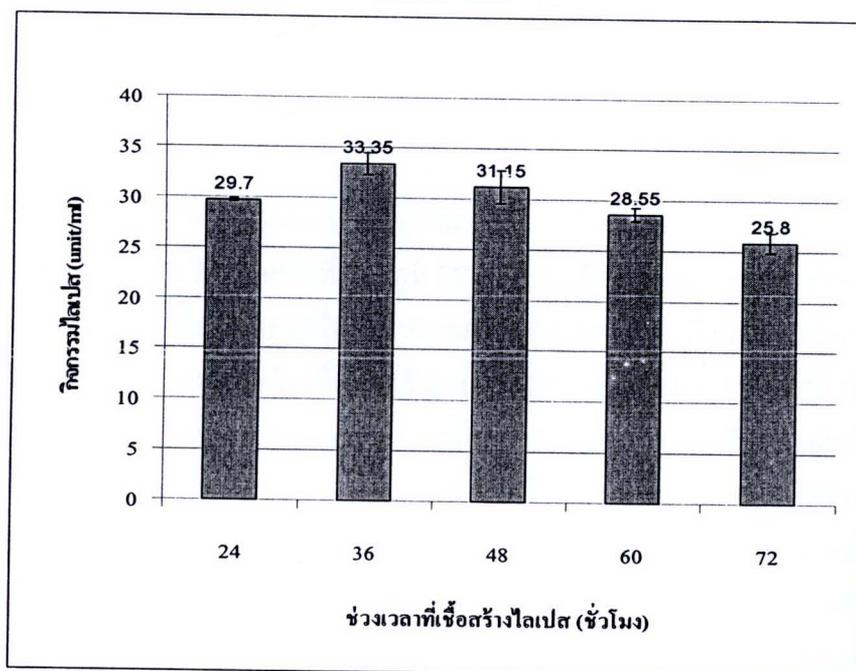
ภาพที่ 22 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 บนเครื่องเขย่าความเร็ว (รอบต่อนาที) ที่ระดับต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.6) ช่วงเวลาที่เชื้อสังเคราะห์ไลเปสในปริมาณสูง

จากการศึกษาช่วงเวลาต่างๆ ที่เชื้อสังเคราะห์ไลเปสในปริมาณสูงโดยแบคทีเรียชอบอณูภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 เลี้ยงใน enrichment medium B โดยใช้ไขมันมะกอกเป็นสับสเตรทที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 % v/v ที่เอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที ช่วงเวลาที่เชื้อสังเคราะห์ไลเปสในปริมาณสูง (ชั่วโมง) ที่ต่างๆ กัน จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 23 และภาพที่ 23 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 36 ชั่วโมง เชื้อสามารถสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมสูงสุดเท่ากับ 33.35 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48, 24, 60 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ ซึ่งเชื้อสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมเท่ากับ 31.15, 29.70, 28.55 และ 25.80 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าที่ช่วงเวลา 36 ชั่วโมงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียชอบอณูภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 เพื่อการผลิตไลเปส

ตารางที่ 23 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ไขมันมะกอกเป็นสับสเตรทที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 % (v/v), และปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 ปมที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที ตามช่วงเวลาต่างๆ

| ช่วงเวลาที่เพาะเลี้ยง (ชั่วโมง) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|------------------------------------|----------------------------------|---------------|--------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 24 | 29.8 | 29.6 | 29.70 | ±0.14 |
| 36 | 32.6 | 34.1 | 33.35 | ±1.06 |
| 48 | 32.3 | 30.0 | 31.15 | ±1.63 |
| 60 | 29.0 | 28.1 | 28.55 | ±0.64 |
| 72 | 25.1 | 26.5 | 25.80 | ±0.99 |



ภาพที่ 23 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ไขมันมะกอกเป็นสับสเตรท ตามช่วงเวลาต่างๆ

2.7) ชนิดของสับสเตรทที่เหมาะสม

ก. น้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ (ใหม่)

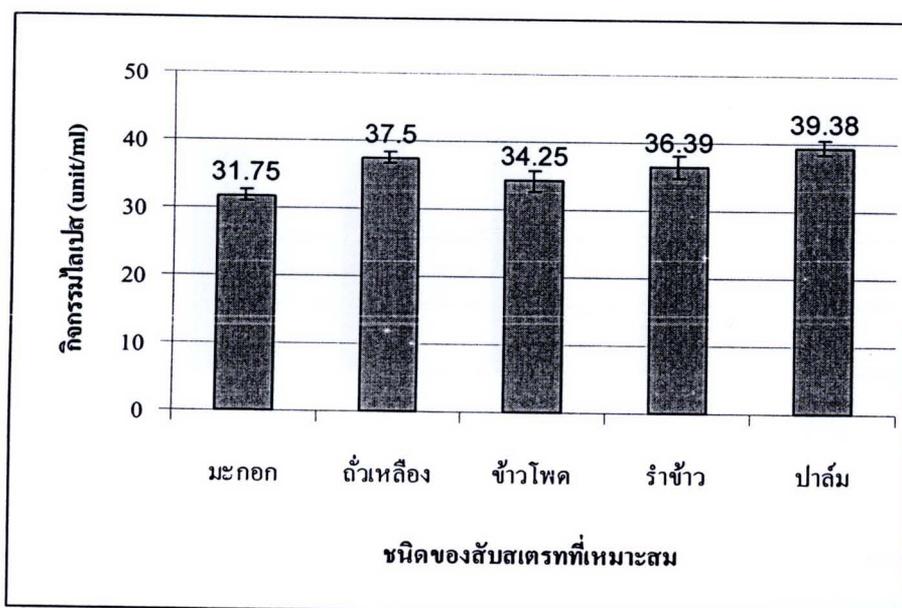
จากการศึกษาชนิดของสับสเตรทที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 เลี้ยงใน enrichment medium B โดยมีสับสเตรทเป็นน้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ชนิดต่างๆ (ใหม่) (ที่ระดับความเข้มข้น 1% v/v) เป็นส่วนประกอบ ปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 และบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 24 และภาพที่ 24 พบว่าน้ำมันปาล์มเป็นชนิดของสับสเตรทที่เหมาะสมที่ให้กิจกรรมไลเปสสูงสุด คือ 39.38 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันมะกอก ตามลำดับ ซึ่งเชื่อให้กิจกรรมไลเปสเท่ากับ 37.50, 36.39, 34.25 และ 31.75 หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าน้ำมันปาล์มเป็นชนิดของสับสเตรทที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 เพื่อการผลิตไลเปส

ข. น้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ (ผ่านการใช้แล้ว)

จากการศึกษาชนิดของสับสเตรทที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 เลี้ยงใน enrichment medium B โดยมีสับสเตรทเป็นน้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ชนิดต่างๆ (ผ่านการใช้แล้ว) (ที่ระดับความเข้มข้น 1% v/v) เป็นส่วนประกอบ โดยมีพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 และบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 25 และภาพที่ 25 พบว่าน้ำมันข้าวโพดที่ผ่านการใช้แล้ว เป็นสับสเตรทที่เหมาะสมที่เชื่อให้กิจกรรมไลเปสสูงสุดเท่ากับ 42.40 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ น้ำมันปาล์ม, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันมะกอก ตามลำดับ ซึ่งเชื่อให้กิจกรรมไลเปสเท่ากับ 39.70, 37.50, 35.70 และ 32.95 หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าน้ำมันข้าวโพดที่ผ่านการใช้แล้วเป็นสับสเตรทที่สามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 เพื่อการผลิตไลเปสได้

ตารางที่ 24 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ (ใหม่) เป็นสับสเตรท ปรับพีเอช เท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

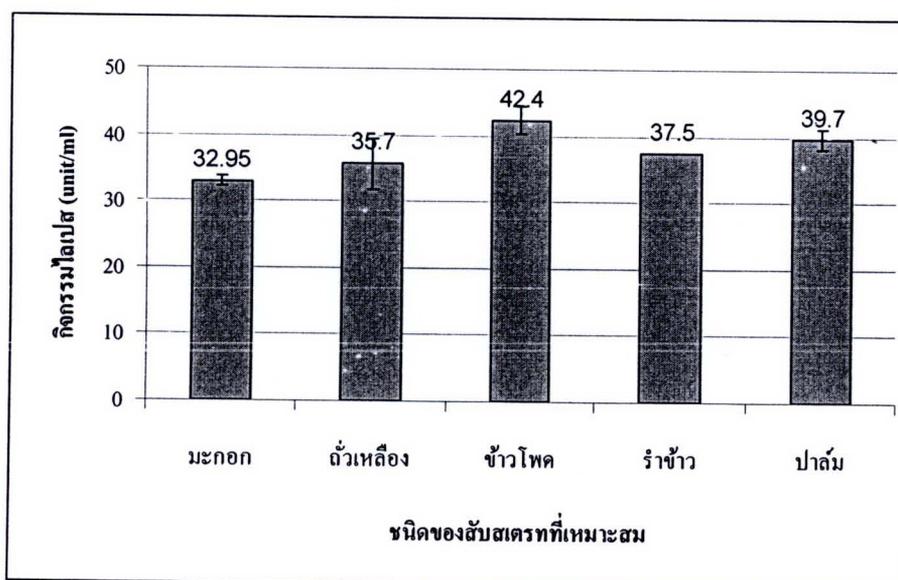
| ชนิดของน้ำมันพืชประกอบอาหาร ที่ผลิตเชิงพาณิชย์ (ใหม่) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|--|----------------------------------|---------------|--------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | เฉลี่ย | |
| น้ำมันมะกอก | 32.50 | 31.00 | 31.75 | ±0.87 |
| น้ำมันถั่วเหลือง | 38.13 | 36.88 | 37.50 | ±0.72 |
| น้ำมันข้าวโพด | 35.63 | 32.88 | 34.25 | ±1.58 |
| น้ำมันรำข้าว | 37.78 | 35.00 | 36.39 | ±1.60 |
| น้ำมันปาล์ม | 38.50 | 40.25 | 39.38 | ±1.01 |



ภาพที่ 24 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ (ใหม่) เป็นสับสเตรท

ตารางที่ 25 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ (ผ่านการใช้แล้ว) เป็นสับสเตรท ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

| น้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ (ผ่านการใช้แล้ว) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|---|----------------------------------|---------------|--------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | เฉลี่ย | |
| น้ำมันมะกอก | 33.6 | 32.3 | 32.95 | ±0.75 |
| น้ำมันถั่วเหลือง | 39.0 | 32.4 | 35.70 | ±3.81 |
| น้ำมันข้าวโพด | 40.6 | 44.2 | 42.40 | ±2.08 |
| น้ำมันรำข้าว | 37.5 | 37.5 | 37.50 | ±0.00 |
| น้ำมันปาล์ม | 41.1 | 38.3 | 39.70 | ±1.62 |



ภาพที่ 25 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันพืชประกอบอาหารที่ผลิตเชิงพาณิชย์ (ผ่านการใช้แล้ว) เป็นสับสเตรท

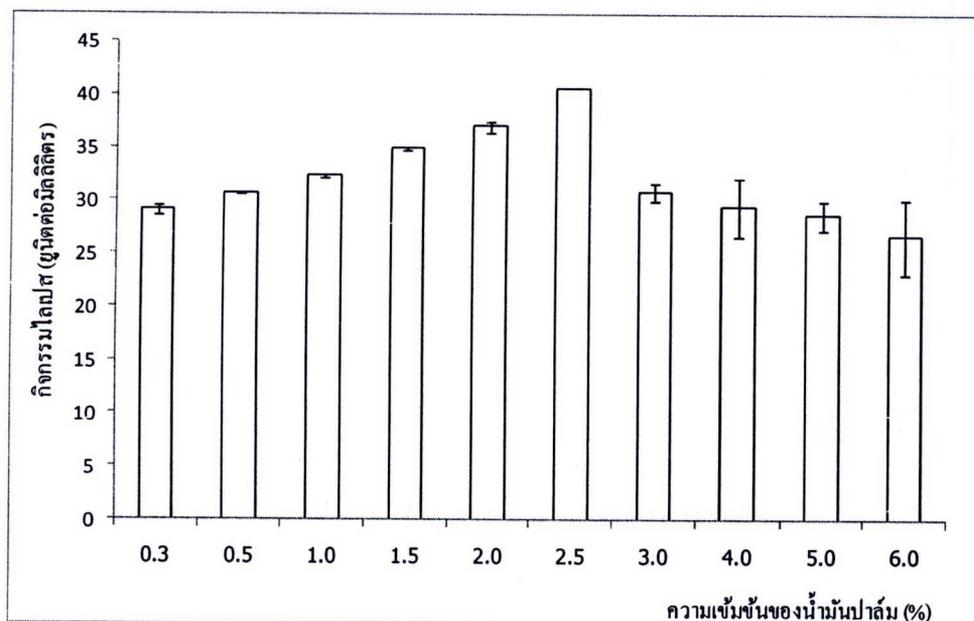


2.8) ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสับสเตรท

จากการศึกษาระดับความเข้มข้นของสับสเตรทที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 เลี้ยงใน enrichment medium B โดยใช้ไขมันปาล์มเป็นสับสเตรท และมีพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปสภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 26 และภาพที่ 26 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ใน enrichment medium B ที่ใช้ไขมันปาล์มเป็นสับสเตรทที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 % (v/v) และปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เชื้อสามารถสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมสูงสุดเท่ากับ 40.60 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 26 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันปาล์มเป็นสับสเตรทที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อายุขบวนการเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

| ระดับความเข้มข้น ของน้ำมันปาล์ม (% v/v) | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|--|----------------------------------|---------------|--------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | เฉลี่ย | |
| 0.30 | 28.7 | 29.5 | 29.10 | ±0.46 |
| 0.50 | 30.6 | 30.8 | 30.70 | ±0.12 |
| 1.00 | 32.2 | 32.5 | 32.35 | ±0.17 |
| 1.50 | 35.0 | 34.8 | 34.90 | ±0.12 |
| 2.00 | 36.5 | 37.5 | 37.00 | ±0.58 |
| 2.50 | 40.6 | 40.6 | 40.60 | ±0.00 |
| 3.0 | 31.6 | 30.1 | 30.85 | ±0.87 |
| 4.0 | 31.8 | 27.0 | 29.40 | ±2.77 |
| 5.0 | 29.8 | 27.5 | 28.65 | ±1.33 |
| 6.0 | 29.7 | 23.6 | 26.65 | ±3.52 |



ภาพที่ 26 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันปาล์มเป็นสับสเตรทที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

3. การผลิตไลเปสโดยการหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Submerge fermentation)

เตรียมหัวเชื้อตั้งต้นในช่วงอายุของหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมเท่ากับ 36 ชั่วโมง จากนั้นเปิดหัวเชื้อตั้งต้นที่เจือจางแล้วปริมาตรที่เหมาะสม (5.0 %, v/v) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ enrichment medium B (ปริมาตร 500 มิลลิลิตร) ที่มีน้ำมันปาล์มเป็นสับสเตรทในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่ากับ 2.5% (v/v) และปรับพีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมเท่ากับ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้ว ทำการแยกเซลล์ออกด้วยเครื่องเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 19,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมไลเปส ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 27 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ด้วยอายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ น้ำมันปาล์มเป็นสับสเตรทที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 % (v/v), และปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เชื้อสามารถสังเคราะห์ไลเปสที่มีกิจกรรมสูงสุดเท่ากับ 36.50 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 27 กิจกรรมไลเปสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 ด้วยอายุของหัวเชื้อตั้งต้น 36 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ น้ำมันปาล์มเป็นสับสเตรทที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 % (v/v), และปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

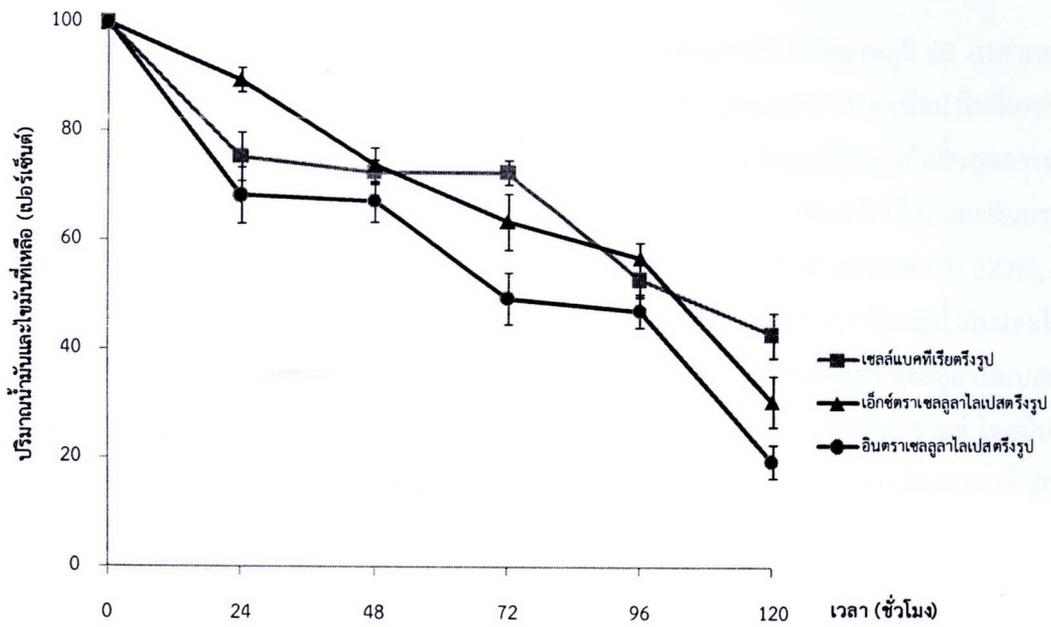
| ชนิดของแบคทีเรีย | กิจกรรมไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) | | | ค่า SD |
|---|----------------------------------|---------------|--------|--------|
| | การทดลองที่ 1 | การทดลองที่ 2 | เฉลี่ย | |
| แบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 | 36.25 | 36.75 | 36.50 | 0.35 |

4. การย่อยไขมันโดยเซลล์แบคทีเรียตรึงรูปและไลเปสตรึงรูป

จากการนำเซลล์แบคทีเรียตรึงรูปและไลเปสตรึงรูปบนเปลือกไขมาใส่ใน olive oil medium และ phosphate buffer medium ตามลำดับ ซึ่งมี emulsion olive oil เท่ากับ 2.0 % v/v บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียและไลเปสคือ 55 องศาเซลเซียส และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที เก็บสารละลายส่วนใสตามช่วงเวลาต่าง ๆ ไปวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ผลการทดลองพบว่า ในช่วงเวลา 120 ชั่วโมง แบคทีเรียตรึงรูป เอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรึงรูป และอินตราเซลลูลาไลเปสตรึงรูป สามารถย่อยสลายน้ำมันและไขมัน มีปริมาณเหลืออยู่เท่ากับ 43.03, 30.74, และ 19.66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 28 และภาพที่ 27 ดังนั้น จึงคัดเลือกเอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรึงรูป และอินตราเซลลูลาไลเปสตรึงรูป เพื่อการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 28 ปริมาณไขมันที่เหลือจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรียตรึงรูป เอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรึงรูป และอินตราเซลลูลาไลเปสตรึงรูป ตามช่วงเวลาต่างๆ

| เวลา (ชม.) | ปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือ (เปอร์เซ็นต์) | | | | | |
|------------|--|-------|------------------------------|-------|---------------------------|-------|
| | เซลล์แบคทีเรียตรึงรูป | SD | เอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรึงรูป | SD | อินตราเซลลูลาไลเปสตรึงรูป | SD |
| 0 | 100.0 | ±0.66 | 100 | ±0.28 | 100.0 | ±0.21 |
| 24 | 75.45 | ±4.49 | 89.63 | ±2.17 | 68.38 | ±5.17 |
| 48 | 72.73 | ±2.16 | 74.07 | ±3.16 | 67.31 | ±3.65 |
| 72 | 72.73 | ±2.28 | 63.7 | ±5.07 | 49.57 | ±4.71 |
| 96 | 53.03 | ±3.02 | 57.04 | ±2.9 | 47.44 | ±2.96 |
| 120 | 43.03 | ±4.12 | 30.74 | ±4.72 | 19.66 | ±3.11 |



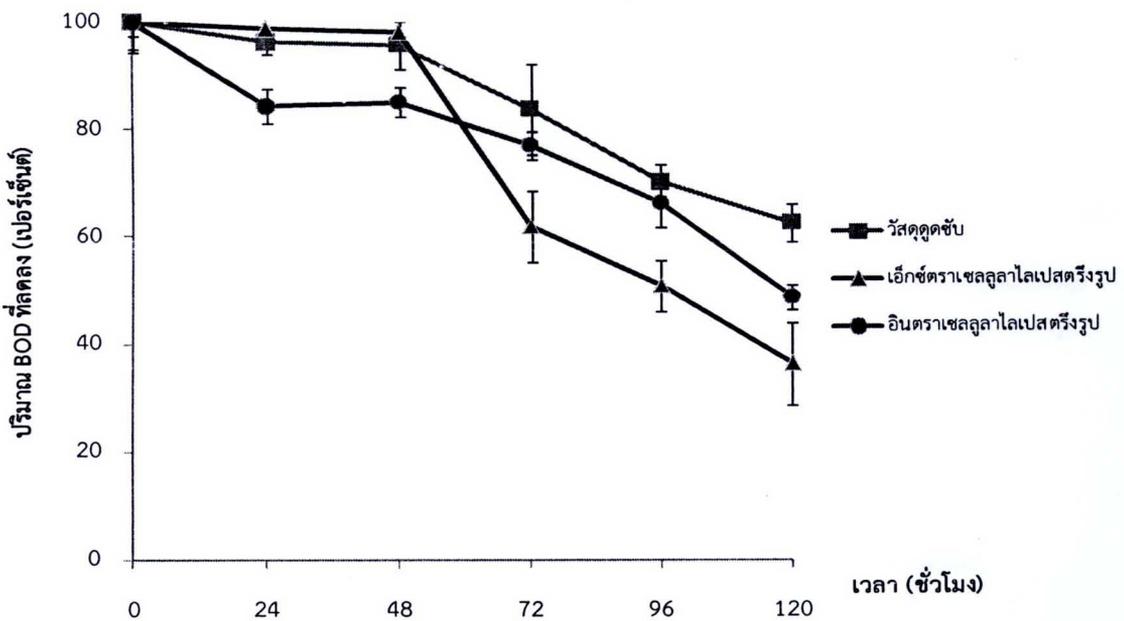
ภาพที่ 27 ปริมาณไขมันที่เหลือจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรียตรึงรูป เอ็กซ์ตราเซลล์ลูลาไลเปสตรึงรูป และอินตราเซลล์ลูลาไลเปสตรึงรูป ตามช่วงเวลาต่างๆ

5. การบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยไลเปสตรังรูป

เมื่อนำไลเปสที่ตรังบนเปลือกไข่มาใส่ในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาต่าง ๆ เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่า BOD และหาปริมาณน้ำมันและไขมัน ผลการทดลองพบว่าปริมาณค่า BOD ลดลงเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่เวลา 120 ชั่วโมง วัสดุดูดซับหรือเปลือกไข่ เอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป (บนเปลือกไข่) และอินตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป (บนเปลือกไข่) สามารถบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ โดยทำให้ค่า BOD ลดลงเท่ากับ 62.63, 36.42 และ 48.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 29 และภาพที่ 28 สำหรับปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือ พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่เวลา 120 ชั่วโมง วัสดุดูดซับหรือเปลือกไข่ เอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป (บนเปลือกไข่) และอินตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป (บนเปลือกไข่) สามารถบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ โดยมีปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือเท่ากับ 31.62, 15.00 และ 29.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 30 และภาพที่ 29

ตารางที่ 29 ปริมาณ BOD ของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ลดลงจากการบำบัดด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูป

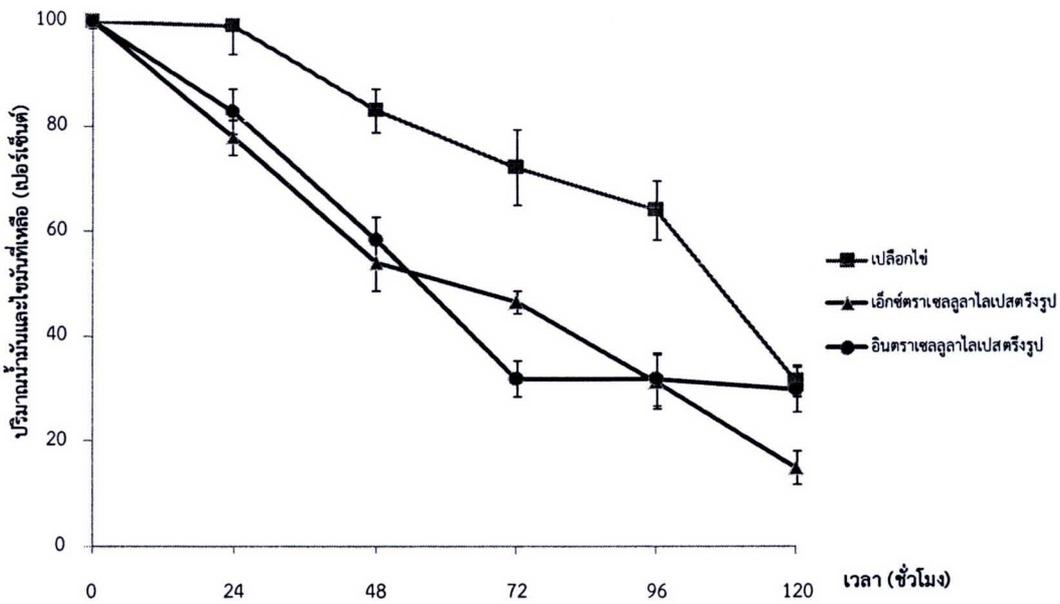
| เวลา (ชม.) | ปริมาณ BOD ที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์) | | | | | |
|---------------|----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|--------------------------------|--------|
| | เปลือกไข่ | ค่า SD | เอ็กซ์ตราเซลล์ูลา ไลเปสตรังรูป | ค่า SD | อินตราเซลล์ูลา ไลเปสตรังรูป | ค่า SD |
| 0 | 100.00 | 2.47 | 100.00 | 4.83 | 100.00 | 5.47 |
| 24 | 96.37 | 2.34 | 98.84 | 2.49 | 84.36 | 3.20 |
| 48 | 95.92 | 4.42 | 98.18 | 2.92 | 85.20 | 2.63 |
| 72 | 83.81 | 8.56 | 62.09 | 6.62 | 77.17 | 2.63 |
| 96 | 70.20 | 3.41 | 50.99 | 4.70 | 66.38 | 4.41 |
| 120 | 62.63 | 3.57 | 36.42 | 7.71 | 48.84 | 2.35 |



ภาพที่ 28 ปริมาณ BOD ของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ลดลงจากการบำบัดด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูป

ตารางที่ 30 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือของน้ำเสียสังเคราะห์ที่บำบัดด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูป

| เวลา (ชม.) | ปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือ (เปอร์เซ็นต์) | | | | | |
|------------|--|--------|---------------------------------|--------|------------------------------|--------|
| | เปลือกไข่ | ค่า SD | เอ็กซ์ตราเซลล์ลูลา ไลเปสตรังรูป | ค่า SD | อินตราเซลล์ลูลา ไลเปสตรังรูป | ค่า SD |
| 0 | 100.0 | 0.04 | 100.0 | 0.1 | 100.0 | 1.36 |
| 24 | 99.19 | 5.57 | 77.78 | 3.28 | 82.80 | 4.24 |
| 48 | 82.97 | 4.19 | 53.89 | 5.19 | 58.22 | 4.57 |
| 72 | 72.16 | 7.28 | 46.39 | 2.19 | 31.85 | 3.42 |
| 96 | 64.05 | 5.52 | 31.39 | 5.28 | 31.85 | 5.04 |
| 120 | 31.62 | 3.05 | 15.00 | 3.19 | 29.94 | 4.28 |

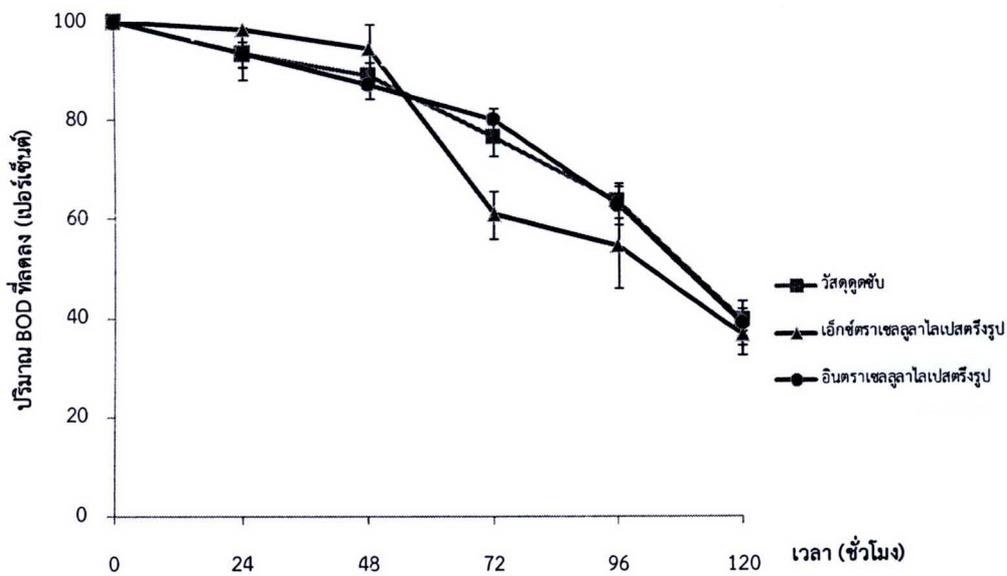


ภาพที่ 29 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือของน้ำเสียสังเคราะห์ที่บำบัดด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูป

6. การบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันจากโรงงานผลิตเนื้อสัตว์เทศบาลวารินชำราบด้วยไลเปสตรังรูป เมื่อนำไลเปสที่ตรึงบนเปลือกไข่มาใส่ในตัวอย่างน้ำเสียปนเปื้อนไขมันจากโรงงานผลิตเนื้อสัตว์เทศบาลวารินชำราบ บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างที่ช่วงเวลาต่าง ๆ เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่า BOD และหาปริมาณน้ำมันและไขมัน ผลการทดลองพบว่า ปริมาณค่า BOD ลดลงเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่เวลา 120 ชั่วโมง วัสดุดูดซับหรือเปลือกไข่ เอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป (บนเปลือกไข่) และอินตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป (บนเปลือกไข่) สามารถบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันจากโรงงานผลิตเนื้อสัตว์เทศบาลวารินชำราบ โดยทำให้ค่า BOD ลดลงเท่ากับ 39.71, 36.72 และ 39.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 31 และภาพที่ 30 สำหรับปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือ พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่เวลา 120 ชั่วโมง วัสดุดูดซับหรือเปลือกไข่ เอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป (บนเปลือกไข่) และอินตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป (บนเปลือกไข่) สามารถบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันจากโรงงานผลิตเนื้อสัตว์เทศบาลวารินชำราบ โดยมีปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือเท่ากับ 54.14, 32.64 และ 48.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 32 และภาพที่ 31

ตารางที่ 31 ปริมาณ BOD ของน้ำเสียปนเปื้อนไขมันจากโรงงานผลิตเนื้อสัตว์เทศบาลวารินชำราบที่ลดลงจากการบำบัดด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูป

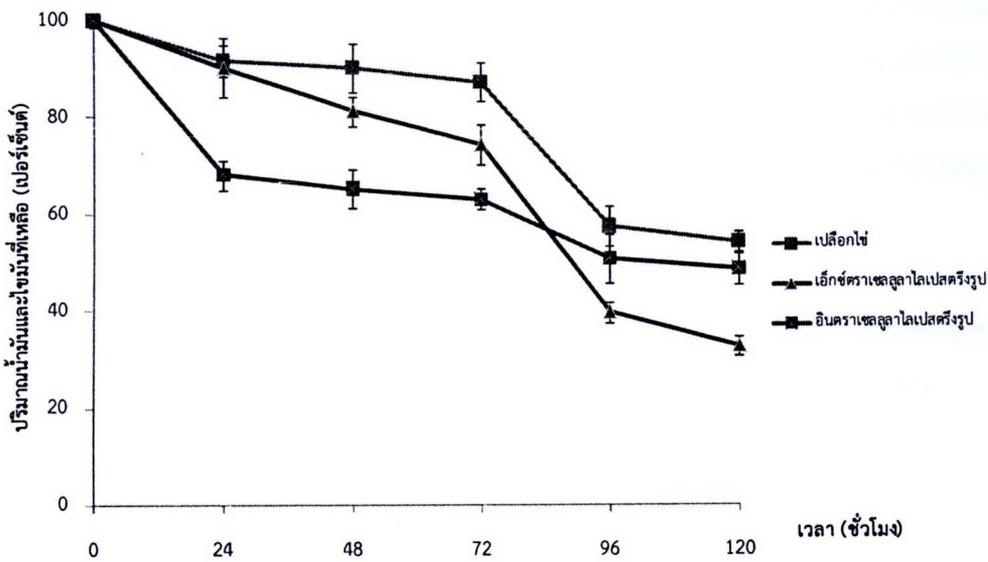
| เวลา (ชม.) | ปริมาณ BOD ที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์) | | | | | |
|------------|----------------------------------|------|------------------------------|------|---------------------------|------|
| | เปลือกไข่ | SD | เอ็กซ์ตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป | SD | อินตราเซลลูลาไลเปสตรังรูป | SD |
| 0 | 100.0 | 0.99 | 100.0 | 1.35 | 100.0 | 1.17 |
| 24 | 93.57 | 5.32 | 98.59 | 2.34 | 93.59 | 2.49 |
| 48 | 89.29 | 2.5 | 94.69 | 4.99 | 87.34 | 2.96 |
| 72 | 76.57 | 3.77 | 60.98 | 4.71 | 80.31 | 2.35 |
| 96 | 63.86 | 3.41 | 54.75 | 8.51 | 62.97 | 3.92 |
| 120 | 39.71 | 2.35 | 36.72 | 4.14 | 39.06 | 4.42 |



ภาพที่ 30 ปริมาณ BOD ของน้ำเสียปนเปื้อนไขมันจากโรงงานผลิตเนื้อสัตว์เทศบาลวารินชำราบที่ลดลงจากการบำบัดด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูป

ตารางที่ 32 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือของน้ำเสียปนเปื้อนไขมันจากโรงงานผลิตเนื้อสัตว์เทศบาลวาริน
ชำราบที่บำบัดด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูป

| เวลา (ชม.) | ปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือ (เปอร์เซ็นต์) | | | | | |
|---------------|--|------|----------------------------------|------|-------------------------------|------|
| | เปลือกไข่ | SD | เอ็กซ์ตราเซลลูลา ไลเปสตรังรูป | SD | อินตราเซลลูลา ไลเปสตรังรูป | SD |
| 0 | 100.0 | 1.23 | 100.0 | 1.05 | 100.0 | 0.11 |
| 24 | 91.72 | 3.23 | 90.28 | 6.09 | 68.12 | 3.04 |
| 48 | 90.26 | 5.05 | 81.25 | 3.14 | 65.22 | 4.09 |
| 72 | 87.26 | 4.05 | 74.31 | 4.14 | 63.04 | 2.09 |
| 96 | 57.32 | 4.14 | 39.58 | 2.05 | 50.72 | 5.16 |
| 120 | 54.14 | 2.17 | 32.64 | 2.05 | 48.55 | 3.14 |



ภาพที่ 31 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่เหลือของน้ำเสียปนเปื้อนไขมันจากโรงงานผลิตเนื้อสัตว์เทศบาลวารินชำ
ราบที่บำบัดด้วยเอนไซม์ไลเปสตรังรูป

7. การวิเคราะห์หาระดับเบสของ 16 S rDNA

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิต่ำที่สังเคราะห์ไลเปส ไอโซเลท PTL38 มาจัดจำแนกระดับสปีชีส์ด้วยเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มจำนวน 16S rDNA fragments โดยใช้ primer pairs pA/pH' และนำ PCR product ที่ได้ไปวิเคราะห์ลำดับเบส (direct sequencing) โดยใช้ primer 943 reverse แล้วนำลำดับเบสที่ได้มาเปรียบเทียบลำดับเบสที่เหมือนกันที่สุดในฐานข้อมูลของ EMBL database โดยใช้ BLAST search ผลการสืบค้นข้อมูลพบว่า ลำดับเบสของเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิต่ำที่สังเคราะห์ไลเปสไอโซเลท PTL38 สอดคล้อง 96 เปอร์เซ็นต์ กับลำดับเบสของ *Geobacillus stearothermophilus* 16S rRNA gene (Accession no. [EU652090.1](#)) ดังนั้นแบคทีเรียชอบอุณหภูมิต่ำที่สังเคราะห์ไลเปสไอโซเลท PTL38 คือ *Geobacillus stearothermophilus* PTL38 (ภาพที่ 32-33)

```
TGCGGCGTGCTATAATGCAAAGTTGAAGCGGACCGAACTCAAGGCTTGCCCTNTGGTTTGGTCAGCGGC
GGACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCCGCAAGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATA
CCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTCGGTTGAAAGGCGGCCTTTGGGCTGTCACTTGCGGATGGG
CCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGGCCTGAGAG
GGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCC
GCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGTGAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGT
TGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTNGAAGAAGGCGGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGAAAGCCCCGGC
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGGCGAGCGTTGTCCCGGAATTTATTGGGCGTAAA
GCGCGGCGCANGCGGTCTCTTAGTCTGATGTGAAAAACGGCCCCGACGGGCTCAACCGTGGGAAGGGTT
CCATTTGGGGCAAACTTGG
```

ภาพที่ 32 ลำดับเบสของ 16S rDNA gene ของเชื้อแบคทีเรียชอบอุณหภูมิต่ำที่สังเคราะห์ไลเปสไอโซเลท PTL38 (Query ID: lcl63227, 568 nucleotides) “N” หมายถึง Unidentified nucleotides

Query 2 GCGGCGTG -CT-ATA -ATGCAAAGTTNAAGCGGACCGAACNCAAGGCTTGCCCTNTGGTT 58
 Sbjct 39 GCGGCGTGCCCTAATACATGC- AAG-TCGAGCGGACCGAAC- GAGGGCTTGCTCT -T- GTT 93
 Query 59 TNGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCCGCAAGACCGGGATAACT 118
 Sbjct 94 TGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGCCCGCAAGACCGGGATAACT 153
 Query 119 CCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTCGGTTGAAAGG 178
 Sbjct 154 CCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTCGGTTGAAAGG 213
 Query 179 CGGCCTTTGGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAA 238
 Sbjct 214 CGGCCTTTGGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAA 273
 Query 239 CGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACT 298
 Sbjct 274 CGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACT 333
 Query 299 GAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAA 358
 Sbjct 334 GAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAA 393
 Query 359 GCCTGACGGAGCGACGCCGCGTGAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAGCTCTGTTGTG 418
 Sbjct 394 GCCTGACGGAGCGACGCCGCGTGAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAGCTCTGTTGTG 453
 Query 419 AGGGACGAAGGAGCGCCGTTNGAAGAAGGCGGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGAAAGCC 478
 Sbjct 454 AGGGACGAAGGAGCGCCGTTNGAAGAAGGCGGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGAAAGCC 513
 Query 479 CCGGCTAACTACGTGCCA-CAGCCGCGGTAATACGTAGGGG- CGAGCGTTGTCCCGGAAT 536
 Sbjct 514 CCGGCTAACTACGTGCCA-CAGCCGCGGTAATACGTAGGGGCGAGCGTTGTCC-GGAAT 572
 Query 537 TTATTGGGCGTAAAGCGCGGCAG-CGGTCTCTTA -GTCTGATGTTGAAA 585
 Sbjct 573 T-ATTGGGCGTAAAGCGCG - CGCAGGCGGTCTCTTAAGTCTGATGT-GAAA 620

ภาพที่ 33 การเปรียบเทียบการเข้าคู่ของลำดับเบสของเชื้อแบคทีเรียขอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปส
 ไอโซเลท PTL38 (Query ID: lcl63227) และลำดับเบสของ subject sequence; *Geobacillus*
stearothermophilus 16S rRNA gene (Accession no. [EU652090.1](#))