

ชื่อวิทยานิพนธ์	การแยกและศึกษาเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายโคคินจาก <i>Bacillus licheniformis</i> และความสามารถในการฆ่าลูกน้ำยุงของเอนไซม์
ผู้วิจัย	นิรติ ผลพนา
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	สมศักดิ์ พันธุ์วัฒนา, Ph.D. อมเรศ ภูมิรัตน์, Ph.D. วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด, Dr. Eng.
วันสำเร็จการศึกษา	26 มกราคม พ.ศ. 2539

บทคัดย่อ

แบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* สายพันธุ์ที่แยกได้จากห้องปฏิบัติการสามารถผลิตเอนไซม์โคคินเนสได้เป็นจำนวนมากเมื่อแบคทีเรียชนิดนี้ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคคิน เป็นส่วนผสมเมื่อเซลล์เข้าสู่ช่วง stationary phase โดยที่เอนไซม์โคคินเนสที่ผลิตได้มีอยู่อย่างน้อย 5 ชนิดและมีขนาด 70.8, 68.1, 63.7, 53.0 และ 49.5 kDa เอนไซม์ขนาด 70.8 kDa ถูกแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธี fractionation ของส่วนน้ำเพาะเชื้อของแบคทีเรียชนิดนี้ด้วยแอมโมเนียม ซัลเฟต ช่วง 35-65 เปอร์เซ็นต์ และ column chromatography ด้วย CM- และ DEAE-sephadex matrix ตามลำดับ จากนั้นจึงมีการศึกษาคุณสมบัติ physicochemical ในด้านต่างๆ พบว่า เอนไซม์มี optimal temperature ที่ 60°C และ activity ก่อนข้างกทน เมื่อเก็บที่ 40-50°C และพบว่า activity ของเอนไซม์จะลดลงอย่างมากเมื่อเอนไซม์อยู่ในสารละลายที่มีภาวะเป็นกรด, ค่าง หรือ อุณหภูมิสูง ($\geq 70^\circ\text{C}$), activity จะคงทนมากเมื่อเอนไซม์ถูกเก็บอยู่ในน้ำกลั่น จากการศึกษา enzyme kinetics ได้ค่า Michaelis's constant และ maximum velocity (V_m) ของเอนไซม์ชนิดนี้มีค่า

3.33 เปอร์เซ็นต์ และ 781.90 mU/ml/mg ตามลำดับ จากการทดสอบความสามารถในการฆ่าลูกน้ำยุง *Aedes aegypti* ของ crude fraction ของเอนไซม์ไคตินเนสซึ่งเตรียมโดยวิธี fractionation ด้วย แอมโมเนียม ซัลเฟต ช่วง 35-65 เปอร์เซ็นต์ และเอนไซม์ไคตินเนส ขนาด 70.8 kDa ที่บริสุทธิ์ ได้ค่า LC_{50} ของ crude fraction มีค่าเท่ากับ 60.67 mU/ml และพบการเสริมประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุง *Aedes aegypti* เมื่อมีการทดสอบ crude fraction นี้ร่วมกับ *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* สายพันธุ์ 4Q2-72 และ crude fraction จะสูญเสียคุณสมบัติในการฆ่าลูกน้ำยุงถ้าถูกต้มที่ $100^{\circ}C$ เป็นเวลา 10 นาที และจากการศึกษาผลของเอนไซม์ไคตินเนสขนาด 70.8 kDa ที่บริสุทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุง *Aedes aegypti* พบว่า ค่า LC_{50} ของเอนไซม์ชนิดนี้มีค่าเท่ากับ 66.67 mU/ml