สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบาญ	(7)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	**1**
ตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	36
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	37
วัสดุ	37
อุปกรณ์	41
วิธีการ	43
3 ผลการทดลอง	55
4 วิจารณ์	85
5 สรุป	91
เอกสารอ้างอิง	93
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	103
ภาคผนวก ข	106
ภาคผนวก ค	111
ภาคผนวก ง	115

สารบาญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก จ	120
ประวัติผู้เขียน	124

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำหนักโมเลกุลของไลเปสจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	5
2	ไลเปสชนิดต่างๆตามความจำเพาะของเอนไซม์	12
3	พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงาน และความคงตัวของไลเปสจากจุลินทรีย์	13
4	อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของไลเปสชอบอุณหภูมิสูง	14
5	ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีผลต่อความคงตัวของไลเปสจากจุลินทรีย์	16
6	ไอออนที่มีผลกระตุ้น และยับยั้งการทำงานของไลเปสจากจุลินทรีย์	17
7	ช่วงเปอร์เซ็นต์ความอิ่มตัวที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีนของไลเปส	24
8	Functional group ของ ion-exchanger	25
9	การนำไลเปสจากจุลินทรีย์ไปใช้ในอุตสาหกรรม	30
10	การทำบริสุทธิ์ไลเปสจาก *Bacillus* sp. UN16a ที่เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง	63

ตารางภาคผนวก

ข1	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และเปอร์เซ็นต์ที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน	110
ฉ1	ส่วนประกอบของเจลสำหรับ SDS-PAGE	123
ฉ2	ส่วนประกอบของแผ่นเจลสำหรับ Nondenaturing-PAGE	123

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1 ชนิดของไลเปสตามแนวความคิดของ Macrae	7
2 การทำปฏิกิริยาต่างๆของเอนไซม์ไลเปส	10
3 ขั้นตอนการแลกเปลี่ยนประจุของ anion exchanger	26
4 ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิสูง	34
5 Agarose gel electrophoresis ของโครโมโซมัลดีเอ็นเอจาก *Bacillus* sp. UN16a ที่ถูกย่อยเพียงบางส่วนด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Sau*3AI	56
6 Agarose gel electrophoresis ของ pUC18 ที่สกัดได้จาก *E. coli* JM109 และนำมาย่อยอย่างสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam* HI	57
7 ลักษณะโคโลนีของ *Bacillus* sp. UN16a ที่เจริญบนอาหารแข็งสำหรับคัดเลือกและผลิตไลเปสที่มีน้ำมันปาล์ม ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นองค์ประกอบ บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง	59
8 การเจริญ การเปลี่ยนแปลงพีเอช และการผลิตไลเปสจาก *Bacillus* sp. UN16a ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Lipase medium บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 ชั่วโมง	60
9 ความคงตัวของเอนไซม์สกัด (crude enzyme extract) ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a และเก็บรักษาไว้ ณ อุณหภูมิต่างๆกันเป็นระยะเวลา 4 วัน	61
10 ช่วงเปอร์เซ็นต์ความอิ่มตัวของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการตกตะกอนไลเปสจาก *Bacillus* sp. UN16a	64
11 การทำบริสุทธิ์ไลเปสจาก *Bacillus* sp. UN16a โดยใช้คอลัมน์แบบแลกเปลี่ยนไอออนชนิด DEAE-Sepharose CL-6B ชะโปรตีนด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.0 ตามด้วยการชะด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0-1 โมลาร์ ในสารละลายบัฟเฟอร์ชนิดเดียวกัน อัตราการไหล 30 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่าง 2.5 มิลลิลิตรต่อหลอด	67

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
12	การทำบริสุทธิ์ไลเปส พีค B ด้วยคอลัมน์แบบเจลฟิวเตชั่นชนิด Sephadex G-100 ชะโปรตีนด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.0 อัตราการไหล 20 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่าง 1.5 มิลลิลิตรต่อหลอด	68
13	แถบโปรตีนของไลเปสที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a โดยวิธี SDS-PAGE	69
14	ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน กับการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf) ใน 12 เปอร์เซ็นต์ SDS-PAGE	71
15	แถบโปรตีนบริสุทธิ์ของไลเปสที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a โดยวิธี Native-PAGE	72
16	ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน กับการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf) ใน 10-15 เปอร์เซ็นต์ Native-PAGE	73
17	อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a	75
18	พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a	76
19	ความคงตัวของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a ที่พีเอชต่างๆ	77
20	ความคงตัวที่อุณหภูมิต่างๆของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a	79
21	ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆต่อกิจกรรมของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a	80
22	ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆต่อความคงตัวของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ก่อนวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์	82

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
23	ผลของไอออนของโลหะชนิดต่างๆต่อกิจกรรมของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a	83
24	ผลของสารเคมีชนิดต่างๆต่อการทำงานของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a	84

รูปภาคผนวก

ข1	กราฟมาตรฐานโปรตีนโบวีนซีรัมอัลบูมิน	109