บทที่ 5

สรุป

5.1 *Bacillus* sp. UN16a ผลิตไลเปสได้สูงสุดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Lipase medium พีเอช 7.0 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 39.29 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร

5.2 สารสกัดเอนไซม์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส มีความคงตัวสูงกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 และ 4 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรมสัมพัทธ์เท่ากับ 98 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 4 วัน และสารสกัดเอนไซม์จะสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมดเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

5.3 ไลเปสที่ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านการตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต คอลัมน์โครมาโทกราฟีชนิด DEAE-Sepharose และ Sephadex G-100 พบว่า เอนไซม์มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น 2.78 เท่าจากเริ่มต้น โดยมีค่ากิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 222.68 มิลลิยูนิตต่อมิลลิกรัม

5.4 เมื่อนำสารละลายเอนไซม์ไลเปสที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ในขั้นตอนสุดท้ายมาตรวจสอบความบริสุทธิ์โดยวิธีโพลิอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรฟอริซิส พบว่า มีแถบโปรตีนเพียงแถบเดียวเมื่อทดสอบโดยวิธี SDS-PAGE และ Native-PAGE ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ไม่มีหน่วยย่อย โดยมีน้ำหนักโมเลกุล 17,000 ดาลตัน

5.5 สารละลายเอนไซม์ไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พีเอช 8.0

5.6 สารละลายเอนไซม์ไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a มีความคงตัวในช่วงพีเอช 7.0-9.0 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง และมีความคงตัวต่ออุณหภูมิที่ใช้ทดสอบตั้งแต่ 35-65 องศาเซลเซียส เมื่อบ่มสารละลายเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆเป็นเวลา 60 นาที โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

5.7 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆต่อการทำงานของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a พบว่า เอนไซม์มีค่ากิจกรรมน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบด้วย acetone, butanol, ethanol และ methanol ตามลำดับ และสารละลายเอนไซม์มีความคงตัวต่อ isooctane และ hexane มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อบ่มสารละลายเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และเอนไซม์จะสูญเสียกิจกรรมทั้งหมดเมื่อทดสอบด้วย chloroform และ methanol

5.8 ผลของไอออนของโลหะต่อการทำงานของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a พบว่า ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออนของโลหะจาก 1 มิลลิโมลาร์ เป็น 10 มิลลิโมลาร์ ยกเว้นไอออนของ Ca^{2+} ที่สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ โดยทำให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจาก 103 เปอร์เซ็นต์ เป็น 116 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอออนของ Fe^{3+} สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้มากกว่าไอออนชนิดอื่นที่ใช้ทดสอบ โดยที่ความเข้มข้น10 มิลลิโมลาร์ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์มีค่าลดลงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

5.9 ผลของสารเคมีชนิดต่างๆต่อการทำงานของไลเปสบริสุทธิ์ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. UN16a พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ทดสอบจาก 0.1 มิลลิโมลาร์ เป็น 1 มิลลิโมลาร์ EDTA และ 2-mercaptoethanol ลดการทำงานของเอนไซม์เพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับ PMSF และ SDS โดยที่ความเข้มข้นของ PMSF และ SDS ที่ 1 มิลลิโมลาร์ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 55 และ 34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ