5. สรุป

จากการศึกษาการเติบโตของสาหร่าย *S. minervae* และการทำงานของเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสในเซลล์และสารกัดหยาบ ตลอดจนข้อมูลทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทส สามารถสรุปผลได้ดังนี้

5.1 ในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติในบ่อน้ำร้อน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *S. minervae* สามารถดำรงชีวิตได้คือ อุณหภูมิในช่วง 26-48 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6-8 ไม่มีไนเตรต, ไนไตรต์ และซัลเฟอร์

5.2 สภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ คือ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารดัดแปลงสูตร BG-11 pH 7.4 ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรต 1 มิลลิโมลาร์ และโซเดียมไบคาร์บอเนต 23 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 152 ไมโครโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที

5.3 ตำแหน่งของเอนไซม์ไนเตรตรีดักของสาหร่าย *S. minervae* อยู่บนเมมเบรนของเซลล์และไม่สามารถสกัดด้วยสารดีเทอร์เจนต์ TritonX-100, Deoxycholate, Tween 20, CHAPS และ Sodium dodecyl sulphate สารสกัดหยาบที่ผ่านการสกัดด้วย Triton X-100 เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดกิจกรรมเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และ Sodium dodecyl sulphate เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ลดกิจกรรมเอนไซม์ 80 เปอร์เซ็นต์

5.4 สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสในสารสกัดหยาบ คือ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกลาง-ด่าง ในช่วง 7-10

5.5 ในการรักษากิจกรรมเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสในสารสกัดหยาบ พบว่า glycerol 3, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ สามารถรักษากิจกรรมเอนไซม์ไว้ได้นานกว่า 20 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ในการเก็บรักษาเอนไซม์ไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ คือ 4, 0, -20 และ -80 ทำให้สารสกัดหยาบสูญเสียกิจกรรมเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทส

5.6 การศึกษาการใช้สารให้อิเล็กตรอน พบว่าสารสกัดหยาบเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสไม่สามารถใช้อิเล็กตรอนจาก NADH, NADPH, Succinate salt และ Bromophenol blue เนื่องจาก เอนไซม์สามารถรับอิเล็กตรอนจาก quinine pool ในเมมเบรนและสามารถใช้อิเล็กตรอนจาก Methyl viologen ที่ถูกรีดิวซ์ด้วย $Na_2S_2O_4$ (dithionite) ได้

5.7 การศึกษาสารยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทส Sodium azide, Sodium thiocyanate, Arsenic trioxide และ Potassium ferricyanide สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสได้ 88.09, 10.92, 14.89 และ 12.66 เปอร์เซ็นต์

5.8 การศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสในสารสกัดหยาบ พบว่าค่า K_m ของไนเตรตเท่ากับ 0.33 มิลลิโมลาร์ และ V_{max} ของไนเตรตเท่ากับ 3.33 นาโนโมลต่อนาทีต่อมิลลิกรัมโปรตีน

5.9 ความเสถียรของเอนไซม์ในสารสกัดหยาบในอุณหภูมิสูง พบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สารสกัดหยาบเอนไซม์มีกิจกรรมสูงขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงกว่านี้เอนไซม์จะเสียสภาพ และสารสกัดหยาบเอนไซม์ไม่มีความเสถียรที่อุณหภูมิต่ำเพราะเอนไซม์มีกิจกรรมลดลงเมื่อบ่มสารสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 0 และ 4 องศาเซลเซียส

5.10 การทดสอบการเกิด cross reaction ของแอนติบอดีต่อเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสของข้าวโพดกับสารสกัดหยาบเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสในเซลล์สาหร่าย *S. minervae* พบว่าสารสกัดหยาบเอนไซม์สามารถเกิด cross reaction กับแอนติบอดีต่อเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสของข้าวโพดได้ แสดงว่าเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสในข้าวโพดมีโครงสร้างบางส่วนเหมือนกันกับเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสของ *S. minervae*

5.11 การนำสารสกัดหยาบที่ผ่านการสกัดด้วย Triton X-100 และ Sodium dodecyl sulphate มาทดสอบการเกิด cross reaction พบว่าสารสกัดหยาบเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสที่ผ่านการสกัดด้วย Triton X - 100 25 เปอร์เซ็นต์ ยังสามารถเกิด cross reaction กับแอนติบอดีเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสของข้าวโพดได้ แต่สารสกัดหยาบที่ผ่านการสกัดด้วย Sodium dodecyl sulphate 1 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถเกิด cross reaction ได้ทั้งนี้เนื่องจาก Sodium dodecyl sulphate ทำลายโครงสร้างของเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสในสารสกัดหยาบ

5.12 การนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ เอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสจากสาหร่าย *S. minervae* ยึดติดกับเมมเบรนอย่างเหนียวแน่น จึงไม่สามารถสกัดเอนไซม์และทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ได้ และเนื่องจากเอนไซม์มีคุณสมบัติที่ดีและสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้อาจเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัย และนำเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสไปใช้ร่วมกับเอนไซม์อื่น ๆ เพื่อกำจัดน้ำเสีย หรือวิเคราะห์ปริมาณไนเตรตต่อไป