

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

1. การเลี้ยง *Bacillus cereus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคอลลอยด์ลโคทินเป็นองค์ประกอบ และเพิ่มอะซิเตดความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้เชื้อมีแอกติวิตีของโคทินเนสสูงขึ้น
2. การเตรียมโคทินเนสจากน้ำเลี้ยงเชื้อของ *Bacillus cereus* ให้มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นด้วยคอลล์มันน์ DEAE-cellulose, คอลล์มันน์รีเจนเนอเรทโคทิน และเซฟาเด็กซ์จี-200 ตามลำดับ ทำให้เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 24 เท่า มีผลผลิตเอนไซม์เหลืออยู่ 11 เปอร์เซ็นต์ และมีแอกติวิตีจำเพาะ 0.62 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน
3. พบแถบแอกติวิตีของโคทินเนสจากพอลิอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟริซิสแบบไม่เสียสภาพ จำนวน 2 แถบกว้างในสารละลายเอนไซม์ทุกชั้นตอนยกเว้นเอนไซม์ที่ผ่านคอลล์มันน์เซฟาเด็กซ์จี-200 ซึ่งยับยั้งแอกติวิตีของโคทินเนสไม่ได้ผล
4. การศึกษาขนาดโมเลกุลด้วยเอสดีเอส-พอลิอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟริซิสแบบเสียสภาพ พบว่าในสารละลายเอนไซม์อย่างหยาบมีโคทินเนสอย่างน้อย 6 ชนิด มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 89, 50.5, 43.4, 36, 31.4 และ 17.6 กิโลดาลตัน เมื่อนำสารละลายเอนไซม์ไปผ่านชั้นตอนการทำบริสุทธิ์ด้วยรีเจนเนอเรทโคทิน พบแถบแอกติวิตีเหลือเพียง 3 แถบกว้าง ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 33.3, 20.3, 16.2 กิโลดาลตัน ส่วนเอนไซม์ที่ผ่านคอลล์มันน์เซฟาเด็กซ์จี-200 ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่สามารถยับยั้งแอกติวิตีของโคทินเนสได้ แต่การคำนวณน้ำหนักโมเลกุลจากแอกติวิตีที่คของชั้นตอนการทำเซฟาเด็กซ์จี-200 พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ประมาณ 25 กิโลดาลตัน
5. พีเอช และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารละลายเอนไซม์ที่เตรียมจากเซฟาเด็กซ์จี-200 ในการย่อยคอลลอยด์ลโคทิน คือ 6.0 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ
6. เอนไซม์ค่อนข้างเสถียรในช่วงพีเอชและอุณหภูมิที่กว้าง คือ ระหว่าง pH 4-12 และระหว่างอุณหภูมิ 25-60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ
7. เอนไซม์สามารถไฮโดรไลซ์คอลลอยด์ลโคทิน ไกลคอลโคทิน รีเจนเนอเรทโคทิน และโคทินบริสุทธิ์ได้ดีตามลำดับจากมากไปน้อย (100, 50, 24 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่ไม่สามารถไฮโดรไลซ์โคโตแซน ไกลคอลโคโตแซน และโคทินผงไม่บริสุทธิ์
8. เอนไซม์มีแอกติวิตีของโคโทไบโอซิเดสและเอนโดโคทินเนสในอัตราส่วน 1.07:1.00 และไม่มีแอกติวิตีของเอ็น-อะซิติกกลูโคซามินิเดส
9. ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ CuSO_4 , ZnSO_4 , MnCl_2 และ HgCl_2 สามารถยับยั้งแอกติวิตีของเอนไซม์อย่างสมบูรณ์ ขณะที่ CaCl_2 , FeCl_2 ยับยั้งแอกติวิตีของเอนไซม์ได้เกือบสมบูรณ์ (98-99 เปอร์เซ็นต์) แต่ MgCl_2 ยับยั้งแอกติวิตีของเอนไซม์ได้เล็กน้อย (6 เปอร์เซ็นต์)