บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. ผลการเตรียม NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์จาก *Bacillus subtilis* 168

เมื่อนำเซลล์ *Bacillus subtilis* 168 ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Spizizen salt จนได้ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตรเท่ากับ 1.0 จำนวน 10 ลิตร มาทำให้เซลล์แตก แล้วปั่นแยกเอาเฉพาะผนังเซลล์มาสกัดเอา NA-L-alanine amidase ด้วยสารละลายลิเทียมคลอไรด์เข้มข้น 5 โมลาร์ แล้วทำการไดอะไลซิสในสารละลายลิเทียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ได้ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่มีค่ากิจกรรมทั้งสิ้น (total activity) เท่ากับ 160.5 หน่วยเอนไซม์

2. ผลการศึกษาสมบัติของ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2.1.1 เมื่อนำ NA-L-alanine amidase ที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 และ 260 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนตามสูตร

ความเข้มข้นของโปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) = $1.55\ A_{280} - 0.76\ A_{260}$

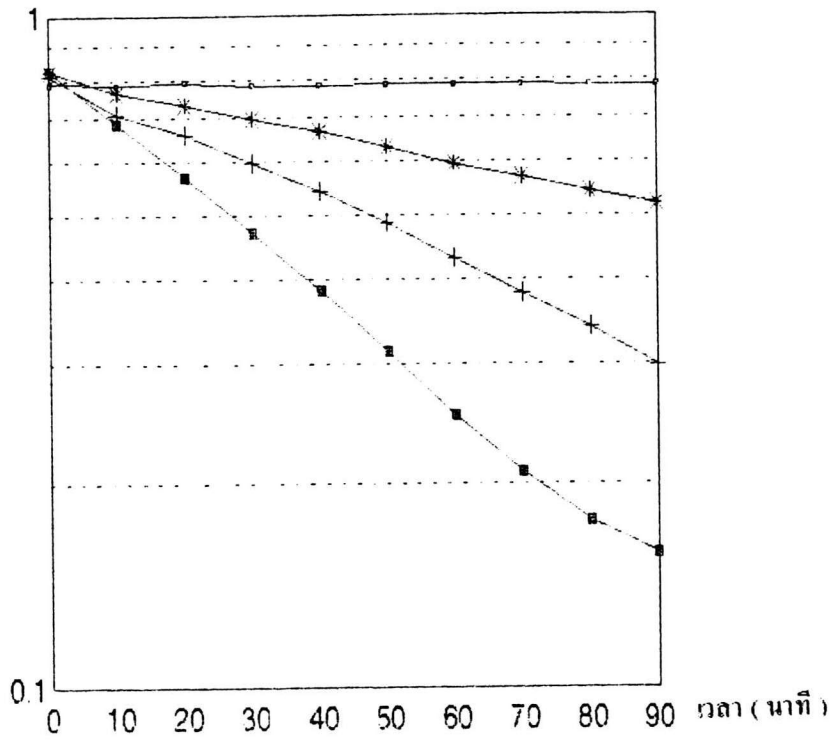
ได้ความเข้มข้นของโปรตีน = 0.475 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.1.2 เมื่อนำ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีของแบรดฟอร์ด พบว่า NA-L-alanine amidase ที่เตรียมได้มีปริมาณโปรตีน 0.46 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใกล้เคียงกันกับค่าปริมาณโปรตีนที่คำนวนได้จากข้อ 2.1.1

2.2 ผลการหากิจกรรมของ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้จากข้อ 1

เมื่อนำ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้มาหากิจกรรมของเอนไซม์ โดยนำมาย่อยสลายผนังเซลล์ของ *Bacillus subtilis* 168 ที่ต้มกับสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต จากรูปที่ 7 จะเห็นว่าเมื่อใช้เอนไซม์ปริมาณ 0.25, 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร ของปฏิกริยาลดลง 0.005 0.010 และ 0.021 ภายในเวลา 1 นาทีตามลำดับ หรือ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้นี้ มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 21.4 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร และจากผลข้อ 2.1 เอนไซม์นี้มีปริมาณโปรตีนเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 0.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์นี้จึงมีค่าเท่ากับ 45.5 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิกรัมโปรตีน ดังสรุปผลการเตรียม NA-L-alanine amidase จาก *Bacillus subtilis* 168 ได้ดังนี้

	จำนวนเซลล์ (ลิตร)	จำนวนเอนไซม์ (มิลลิลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วยเอนไซม์/มล.)	โปรตีน (มก./มล.)	กิจกรรมทั้งหมด (หน่วยเอนไซม์)	กิจกรรรมจำเพาะ (หน่วยเอนไซม์/มล.)
NA-L-alanine amidase	10	7.5	21.4	0.47	160.5	45.5

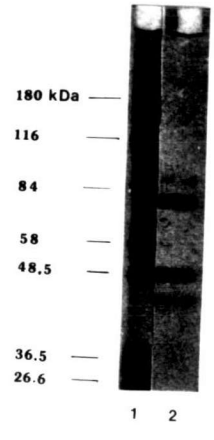


รูปที่ 6 แสดงกิจกรรมของ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้ สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้: ปริมาณของเอนไซม์ในปฏิกริยา 0 มิลลิลิตร (□) 0.25 มิลลิลิตร(＊) 0.5 มิลลิลิตร(+) และ 1.0 มิลลิลิตร (■)

3. ผลการวิเคราะห์ลักษณะและความบริสุทธิ์ของ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ ที่เตรียมได้ โดยวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเลคโตรโฟริซิสชนิดแผ่นตามวิธีของ Laemmli (1970)

ผลการวิเคราะห์ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้โดยใช้เซพาเรตติ้ง เจลเข้มข้น 10%(น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณเอนไซม์ 5 ไมโครกรัมต่อแถว ความดันกระแสไฟฟ้าคงที่ที่ 50 โวลท์ หลังกระบวนการย้อมสีโปรตีนและชะล้างเอาสีส่วนเกินออกไปจากแผ่นเจลแล้ว พบแถบโปรตีน 4 แถบ เป็นแถบสีเข้ม 2 แถบ และแถบสีจาง 2 แถบ และเมื่อนำระยะทางที่โปรตีนเหล่านี้เคลื่อนที่ได้บนแผ่นเจล มาเปรียบเทียบกับระยะทางที่โปรตีนมาตรฐานเคลื่อนที่ได้ แล้วแปลผลจากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง

น้ำหนักโมเลกุลและระยะทางที่โปรตีนมาตรฐานเคลื่อนที่ได้บนแผ่นเจลในภาวะการวิเคราะห์เดียวกัน (ภาคผนวก ง) จะได้ว่าโปรตีนหลักซึ่งเห็นเป็นแถบโปรตีนสีเข้ม เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 50 และ 82 กิโลดาลตัน ส่วนแถบโปรตีนสีจางเป็นแถบโปรตีนที่ปนเปื้อนอยู่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุล 41.0 และ 87.0 กิโลดาลตัน

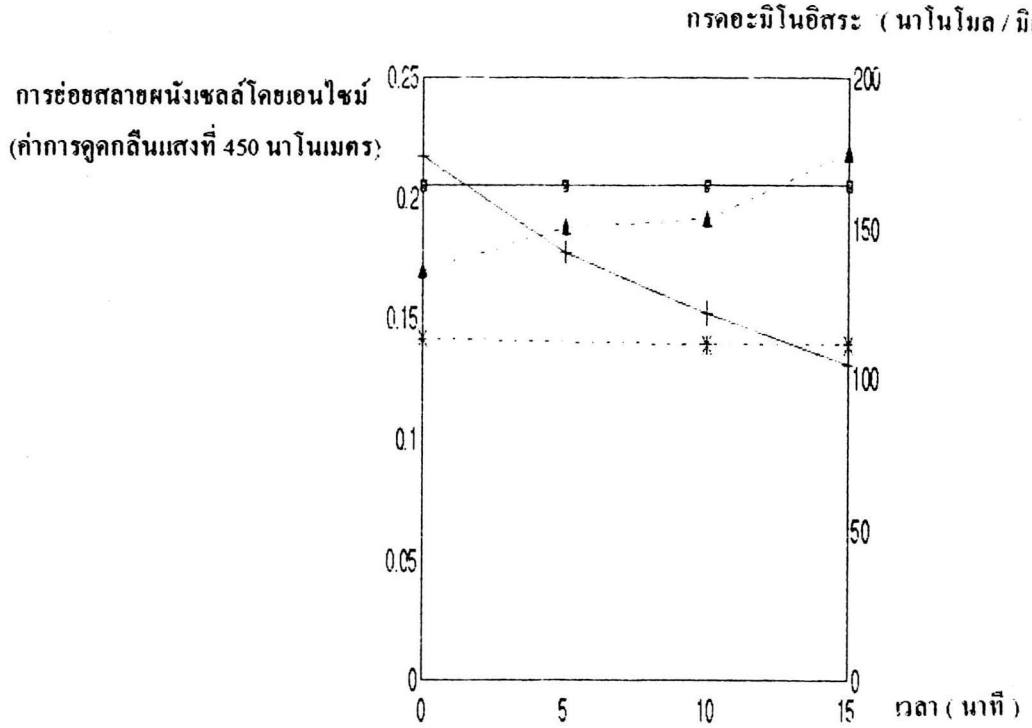


รูปที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์ NA-L-alanine amidase ที่เตรียมได้โดยวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเลคโตรโฟริซิส แถบโปรตีนมาตรฐาน (แถวที่ 1) แถบโปรตีนของเอนไซม์ที่ปรากฏ (แถวที่ 2)

4. ผลการตรวจพิสูจน์เอนไซม์กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้ว่า คือ NA-L-alanine amidase

4.1 ผลการตรวจหากรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์สุดท้าย ที่เกิดจากการย่อยสลายผนังเซลล์ของ *Bacillus subtilis* 168 ด้วยเอนไซม์ที่เตรียมได้

ผลการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการที่เอนไซม์ที่เตรียมได้ย่อยสลายผนังเซลล์ของ *Bacillus subtilis* 168 ซึ่งเอนไซม์ทั้งหมดที่เกาะอยู่ที่ผนังเซลล์ถูกทำลายแล้ว ในภาวะที่เติมเฟนิลเมทิลซัลโฟนิลฟลูออไรด์เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสในปฏิกริยา ที่เวลาเริ่มต้น , 5 , 10 และ 15 นาที พบการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนอิสระจาก 135.5 เป็น 150, 153 และ 173 นาโนโมลต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เฉพาะในปฏิกริยาที่เติมเอนไซม์

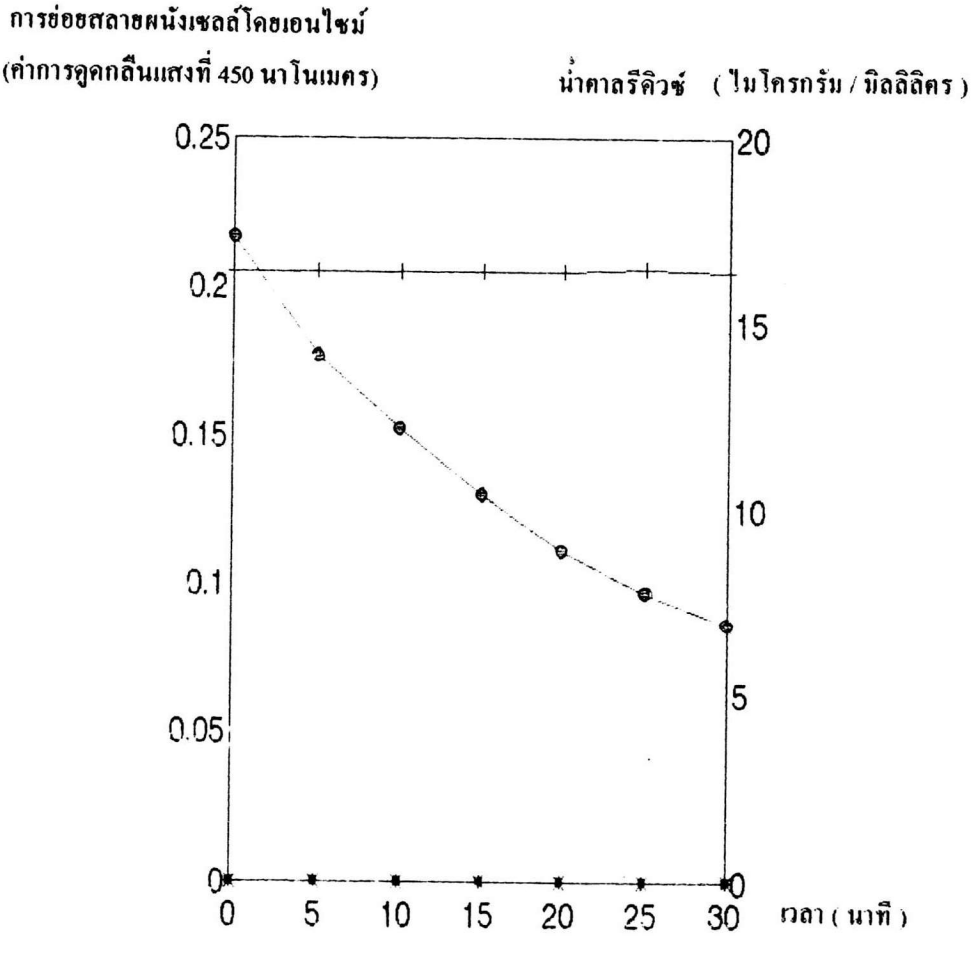


รูปที่ 8 แสดงการเพิ่มของกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการย่อยสลายผนังเซลล์ของ *Bacillus subtilis* 168 โดยเอนไซม์กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้ ในภาวะที่เติมสารยับยั้งการทำงานของโปรติเอสที่ระยะเวลาต่างๆกัน

สัญลักษณ์ที่ใช้เป็นดังนี้ : ปริมาณกรดอะมิโนอิสระในปฏิกริยาที่เติมเอนไซม์ (▲) ไม่เติมเอนไซม์ (*)
ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของปฏิกริยาที่เติมเอนไซม์ (+) ไม่เติมเอนไซม์ (□)

4.2 ผลการตรวจหาน้ำตาลรีดิวซ์ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายผนังเซลล์ของ *Bacillus subtilis* 168 ซึ่งเอนไซม์ทั้งหมดที่เกาะอยู่ที่ผนังเซลล์ถูกทำลายแล้ว ด้วยเอนไซม์ที่เตรียมได้

ผลการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดขึ้นภายในระยะเวลา 30 นาที ไม่พบการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (ดังแสดงในรูปที่ 9)



รูปที่ 9 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการย่อยสลายผนังเซลล์ *Bacillus subtilis* 168 โดยเอนไซม์กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้ ที่ระยะเวลาต่างๆกัน

สัญลักษณ์ที่ใช้เป็นดังนี้ : ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในปฏิกริยาที่เติมเอนไซม์ (■) ไม่เติมเอนไซม์(∗)

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของปฏิกริยาที่เติมเอนไซม์ (●) ไม่เติมเอนไซม์ (+)

5. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้ ในการทำให้เซลล์แบคทีเรียชนิดต่างๆที่มีลักษณะโครงสร้างของเปปทิโดไกลแคนแตกต่างกันแตก

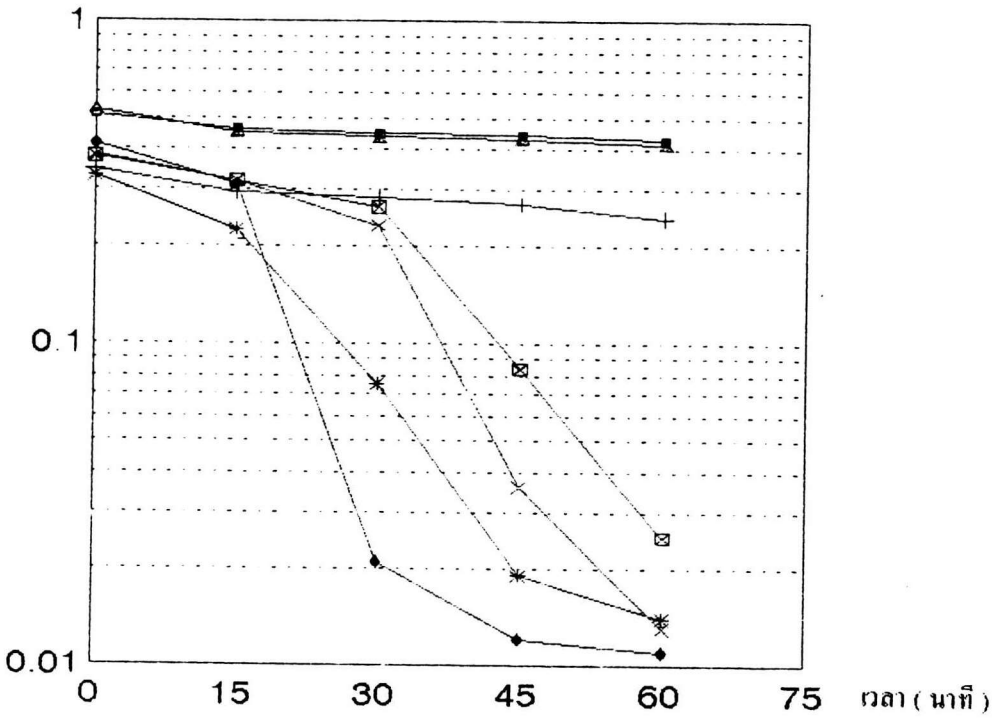
เมื่อนำเซลล์แบคทีเรียชนิดต่างๆซึ่งมีโครงสร้างของเปปทิโดไกลแคนแตกต่างกัน ซึ่งเพาะเลี้ยงไว้ในอาหาร LB ชนิดเหลว จนค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร มีค่าเท่ากับ 0.25 จำนวน 20 มิลลิลิตร มากรองผ่านแผ่นกรองล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น แขวนลอยเซลล์ในสารละลายบัฟเฟอร์ สารละลาย NA-L-alanine amidase หรือสารละลายไลโซไซม์ จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า ติดตามวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์กับระยะเวลาต่างๆ โดยให้ค่าความขุ่นของเซลล์เป็นแกน Y ด้วย log scale และระยะเวลาเป็นแกน X ดังแสดงผลในรูปที่ 10-13 คำนวณอัตราเร็วของการแตกของเซลล์ตามสูตร

อัตราเร็วของการแตกของเซลล์ (k) =

$$\ln \frac{\text{(ค่าความขุ่นของเซลล์เริ่มต้น / ค่าความขุ่นของเซลล์สุดท้าย)}}{\text{ระยะเวลา (นาที)}}$$

คำนวนอัตราเร็วสัมพัทธ์ของการแตกของเซลล์ (relative cell lysis) เมื่อกำหนดให้ค่า k ของเซลล์ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 มีค่าเท่ากับ 1.0 ดังแสดงผลในตารางที่ 2 - 5

ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



รูปที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความขุ่นของเซลล์ *Bacillus subtilis* 168 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ในสารละลายทดสอบชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลาต่างๆ

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

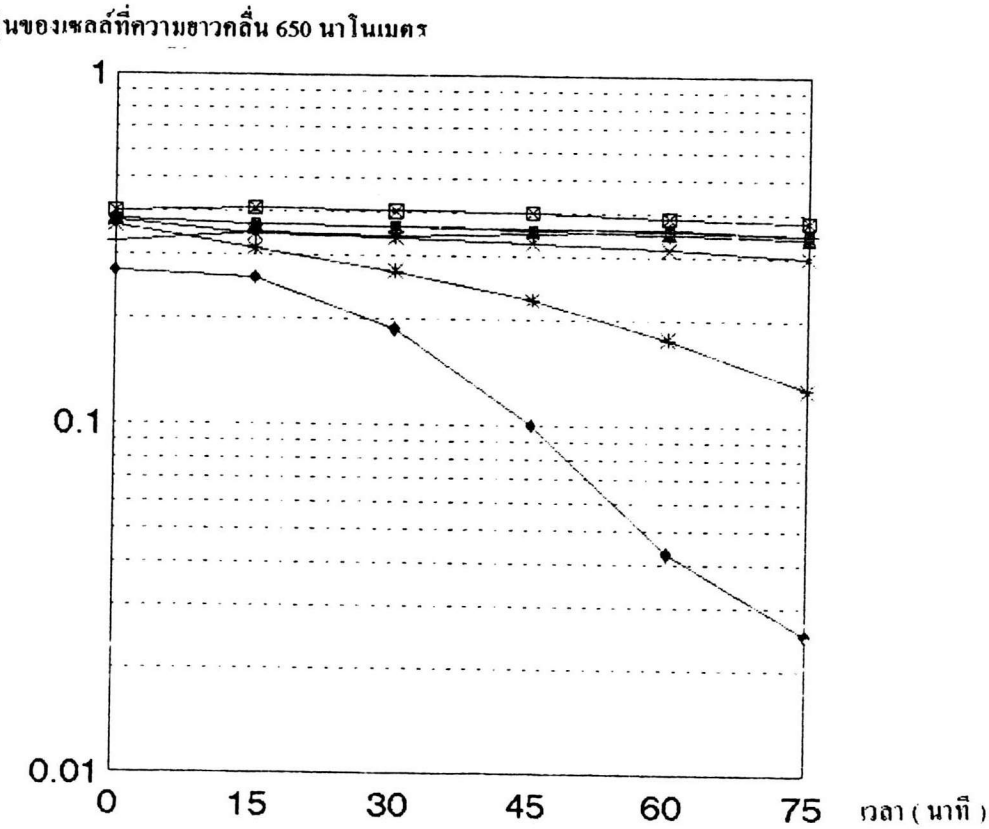
ลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ (▲)

สารละลายเอนไซม์ NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (☑)

สารละลายไลโซไซม์ 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (+) (✳) ตามลำดับ

สารละลายผสมระหว่างเอนไซม์ NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตรกับ ไลโซไซม์ เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (✕) (◆) ตามลำดับ

เอนไซม์ที่ทดสอบละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0



รูปที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความขุ่นของเซลล์ *Micrococcus luteus* TISTR 745 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ในสารละลายทดสอบชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลาต่างๆ

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

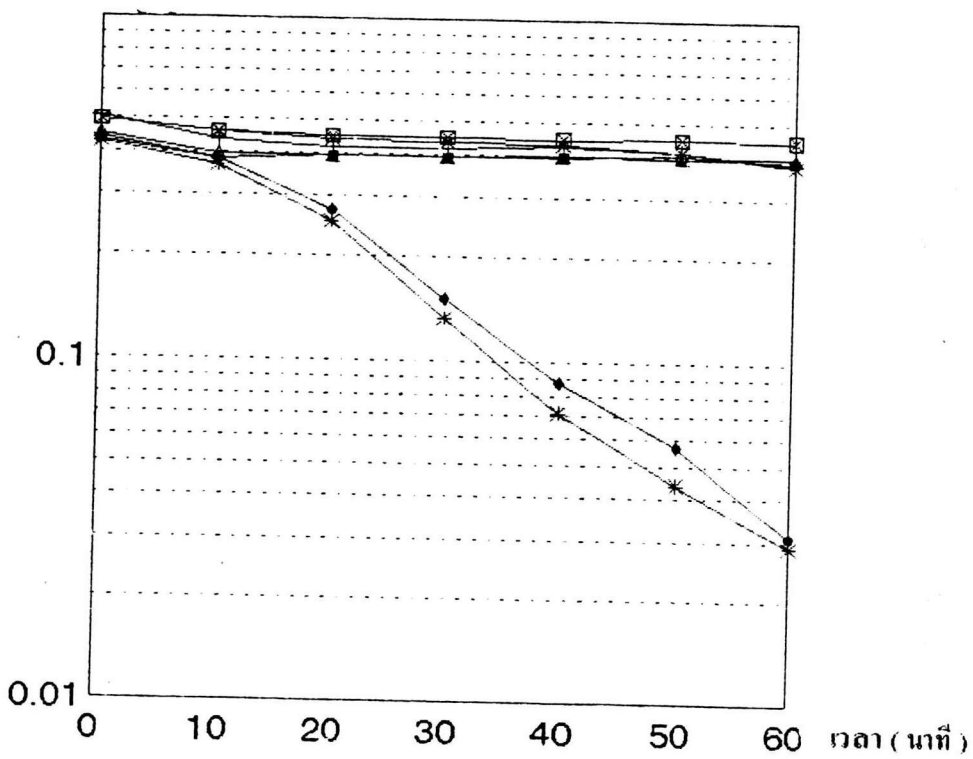
ลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์(▲)

สารละลายเอนไซม์ NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (⊠)

สารละลายไลโซไซม์ 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (+) (✳) ตามลำดับ

สารละลายผสมระหว่างเอนไซม์ NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตรกับ ไลโซไซม์ เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (×) (◆) ตามลำดับ

เอนไซม์ที่ทดสอบละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0



รูปที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความขุ่นของเซลล์ *Streptococcus faecium* IFO 3128 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ในสารละลายทดสอบชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลาต่างๆ

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

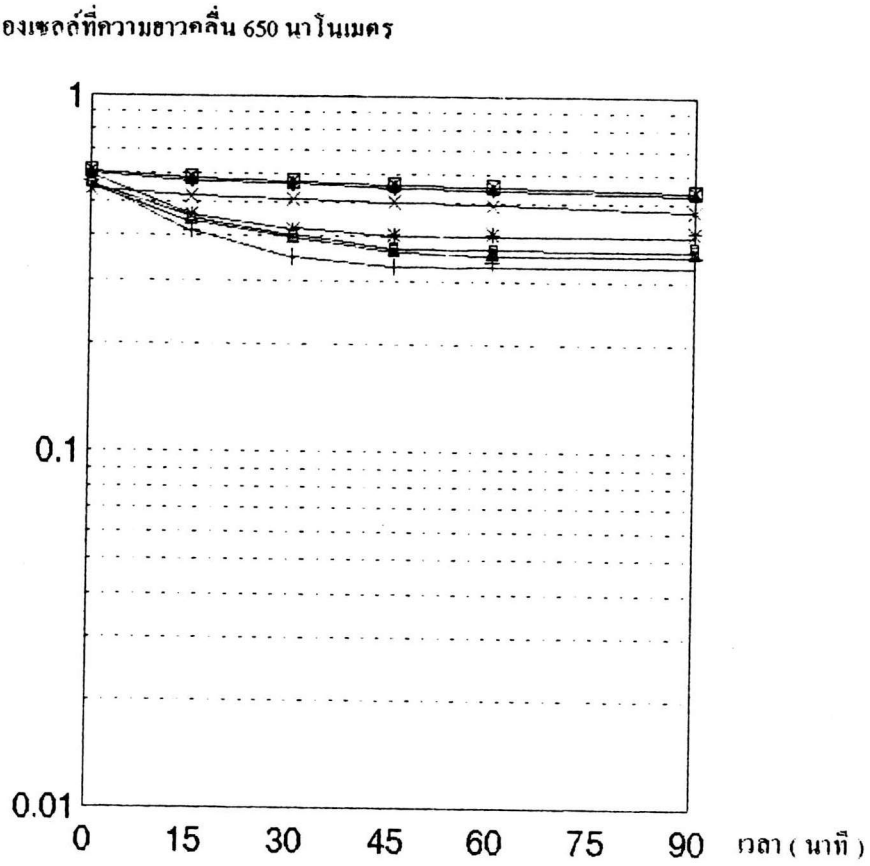
ลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์(▲)

สารละลายเอนไซม์ NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (⊠)

สารละลายไลโซไซม์ 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (+) (✳) ตามลำดับ

สารละลายผสมระหว่างเอนไซม์ NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตรกับ ไลโซไซม์ เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (×) (◆) ตามลำดับ

เอนไซม์ที่ทดสอบละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0



รูปที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความขุ่นของเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ในสารละลายทดสอบชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลาต่างๆ

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

ลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์(▲)

สารละลายเอนไซม์ NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (⊠)

สารละลายไลโซไซม์ 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (+) (✳) ตามลำดับ

สารละลายผสมระหว่างเอนไซม์ NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตรกับ ไลโซไซม์ เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร (✕) (◆) ตามลำดับ

เอนไซม์ที่ทดสอบละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0

I20508773

5.1 ผลการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียชนิดกรัมบวก

ตารางที่ 2. แสดงอัตราเร็วของการแตกของเซลล์และอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ ในสารละลายทดสอบต่างๆของ *Bacillus subtilis* 168 ซึ่งคำนวณตามสูตรจากรูปที่ 10

สารละลาย	อัตราเร็วของการแตกของเซลล์(X 10^{-2} / นาที)	อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์
(1) สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	4.1	1.0
(2) ลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์	5.3	1.29
(3) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	76.0	18.5
(4) ไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	4.1	1.0
(5) ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ / มล.	81.1	19.8
(6) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล. ร่วมกับไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	104	25.4
(7) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.ร่วมกับไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์/มล.	179.4	43.8

ตารางที่ 3 แสดงอัตราเร็วของการแตกของเซลล์และอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลายทดสอบต่างๆ *Micrococcus luteus* TISTR 745 ซึ่งคำนวณตามสูตรจากรูปที่ 11

สารละลาย	อัตราเร็วของการแตกของเซลล์ (X 10^{-2} / นาที)	อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์
(1) สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	0.9	1.0
(2) ลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์	1.1	1.22
(3) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	1.6	1.8
(4) ไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์/มล.	0.9	1.0
(5) ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์/มล.	13.1	14.6
(6) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล. ร่วมกับไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	1.9	1.9
(7) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์/มล.ร่วมกับไลโซไซม์.100 หน่วยเอนไซม์ / มล.	47.2	47.2

ตารางที่ 4 แสดงอัตราเร็วของการแตกของเซลล์และอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลายทดสอบต่างๆของ *Streptococcus faecium* IFO 3128 ซึ่งคำนวณตามสูตรจากรูปที่ 12

สารละลาย	อัตราเร็วของการแตกของเซลล์(X 10^{-2} / นาที)	อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์
(1) สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	0.25	1.0
(2) ลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์	0.31	1.24
(3) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	0.14	0.56
(4) ไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์/ มล.	1.23	4.8
(5) ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์/ มล.	5.66	22.8
(6) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล. ร่วมกับไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	1.54	6.08
(7) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล. ร่วมกับไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ / มล.	5.475	21.9

ตารางที่ 5 แสดงอัตราเร็วของการแตกของเซลล์และอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลายทดสอบต่างๆ ของ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ซึ่งคำนวณตามสูตรจากรูปที่ 13

สารละลาย	อัตราเร็วของการแตกของเซลล์(X 10^{-2} / นาที)	อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์
(1) สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	9.4	1.0
(2) ลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์	10.2	1.085
(3) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	1.7	0.18
(4) ไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์/ มล.	17.4	1.85
(5) ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์/ มล.	11.9	1.27
(6) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล. ร่วมกับไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ / มล.	1.7	0.18
(7) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มล. ร่วมกับไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ / มล.	1.9	0.2

จากตารางที่ 2 - ตารางที่ 5 จะเห็นว่าอัตราเร็วของการแแตกของเซลล์แบคทีเรียกรัมบวกทั้ง 4 ชนิด ที่นำมาทดสอบในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 จะแตกต่างกันถึงกว่า 38 เท่า โดยอัตราเร็วของการแตกของเซลล์ *Staphlococcus aureus* TISTR 118 มีค่าสูงสุด คือ 9.4 x 10^{-2} / นาที ในขณะที่ของ *Streptococcus faecium* IFO 3128 มีค่า 0.25 x 10^{-2} / นาที ดังนั้นการแปลผลประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการชักนำให้เซลล์แบคทีเรียชนิดต่างๆแตก จึงมีความจำเป็นต้องใช้อัตราเร็วของการแตกสัมพันธ์ของเซลล์ Svarachorn และคณะ (1989) พบว่าสารละลาย monovalent cation ที่ความเข้มข้นสูง สามารถทำให้เซลล์แบคทีเรียเกิดการแตกได้ เนื่องด้วย NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้ละลายอยู่ในสารละลายลิเทียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ หรือ NA-L-alanine amidase ที่เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรนี้ มีปริมาณลิเทียมคลอไรด์เข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ซึ่งผลการทดลองพบว่าเป็นความเข้มข้นที่ไม่ทำให้อัตราเร็วของการแตกของเซลล์แบคทีเรียที่ทดสอบแตกต่างจากอัตราเร็วของการแตกของเซลล์ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ปราศจากลิเทียมคลอไรด์(รูปที่ 10- 13) จึงเลือกใช้ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์/มิลลิลิตรเท่านั้นในการทดลองต่อมา ผลการทดสอบกับแบคทีเรียกรัมบวกพบว่าเฉพาะ *Bacillus subtilis* 168 เท่านั้นที่เกิดการแตกในสารละลาย NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร โดยอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์จะใกล้เคียงกับอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ในสารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรคือ 18.5 และ 19.8 ตามลำดับ แสดงว่า *Bacillus subtilis* 168 ไว (sensitive) ต่อ NA-L-alanine amidase มากกว่าไลโซไซม์ เมื่อนำ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรมาผสมกับไลโซไซม์เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร พบการเสริมฤทธิ์กันกล่าวคืออัตราการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลายผสมระหว่าง NA-L-alanine amidase กับไลโซไซม์ 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร จะมีค่าเท่ากับ 25.4 และ 43.8 ตามลำดับ สูงกว่าในสารละลาย NA-L-alanine amidase เพียงอย่างเดียวซึ่งมีค่าเท่ากับ 18.5 และสูงกว่าในสารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเพียงอย่างเดียวซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.0 และ 19.8 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จากรูปที่ 11 และตารางที่ 3 พบว่าเซลล์ *Micrococcus luteus* TISTR 745 แตกเฉพาะในสารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร โดยอัตราเร็วของการแตก

ของเซลล์สัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 14.6 พบการเสริมฤทธิ์กันระหว่าง NA-L-alanine amidase และไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร อัตราการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์มีค่าเท่ากับ 47.2 คิดเป็น 26 เท่า และ 3.2 เท่าของอัตราการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลาย NA-L-alanine amidase และในสารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

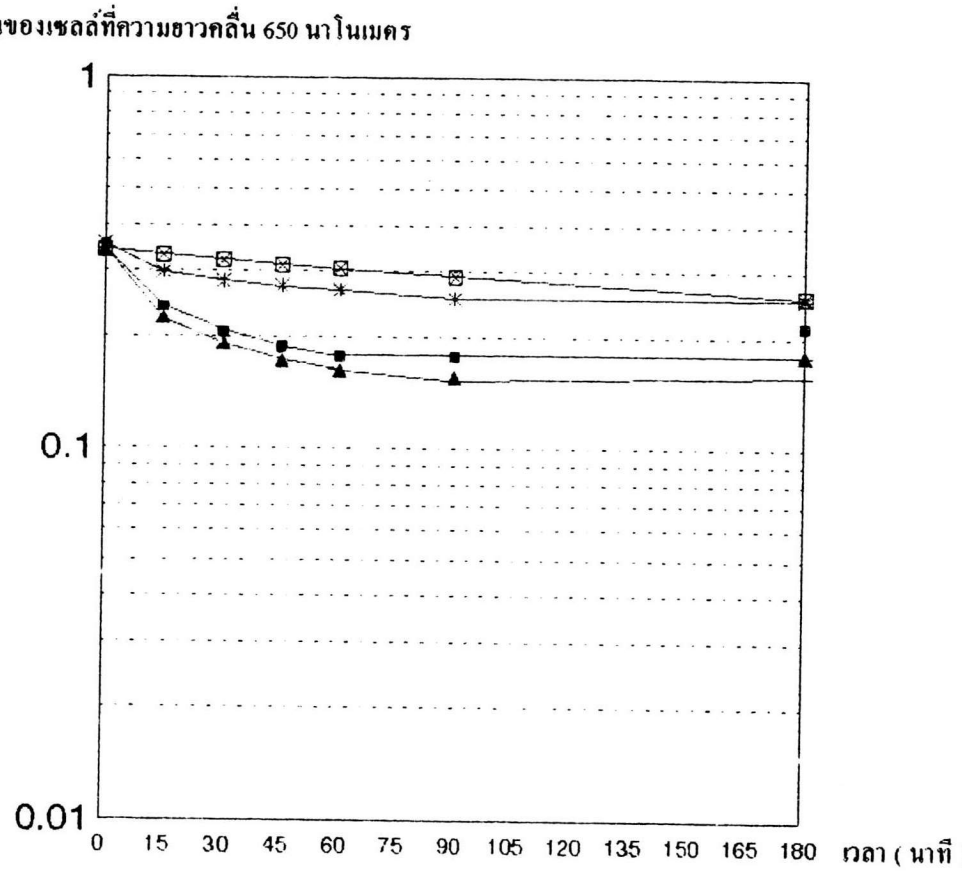
จากรูปที่ 12 และตารางที่ 4 พบว่าเซลล์ *Streptococcus faecium* IFO 3128 แตกเฉพาะในสารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเช่นเดียวกันกับ *Micrococcus luteus* TISTR 745 โดยอัตราเร็วของการแตกของเซลล์สัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 22.8 ไม่พบการเสริมฤทธิ์กันระหว่าง NA-L-alanine amidase และไลโซไซม์

จากรูปที่ 13 และตารางที่ 5 ไม่พบการแตกของเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ในสารละลาย NA-L-alanine amidase และไลโซไซม์ทั้งที่ความเข้มข้น 10 และ100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับอัตราเร็วของการแตกของเซลล์ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 ซึ่งมีค่าสูงถึง 9.4×10^{-2} / นาที อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ในสารละลาย NA-L-alanine amidase ลดลงเป็น 0.18 อัตราการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลายไลโซไซม์ที่ความเข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร มีค่าต่ำกว่าที่ความเข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำเอนไซม์ NA-L-alanine amidase มาผสมกับไลโซไซม์ 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์มีค่าเท่ากับ 0.18 และ 0.2 ตามลำดับ เท่ากับอัตราเร็วการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลาย NA-L-alanine amidase เพียงอย่างเดียว และต่ำกว่าในสารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.85 และ 1.27 ตามลำดับ

5.2 ผลของโปรตีนต่อการแตกของเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118

เนื่องด้วย NA-L-alanine amidase ที่เตรียมได้และไลโซไซม์มีค่ากิจกรรมจำเพาะ 46.5 และ 51300 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับซึ่งแตกต่างกันมาก จึงได้ทำการศึกษาผลของปริมาณโปรตีนต่ออัตราเร็วของการแตกของเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0

ที่มีลิเทียมคลอไรด์เข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ซึ่งเท่ากับความเข้มข้นของลิเทียมคลอไรด์ที่พบใน NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร แล้วเติมโบวีนซีรัมอัลบูมิน เข้มข้น 0.0019 และ 0.137 มิลลิกรัม ซึ่งเท่ากับปริมาณโปรตีนที่พบในไลโซไซม์ เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร และในเอนไซม์ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร



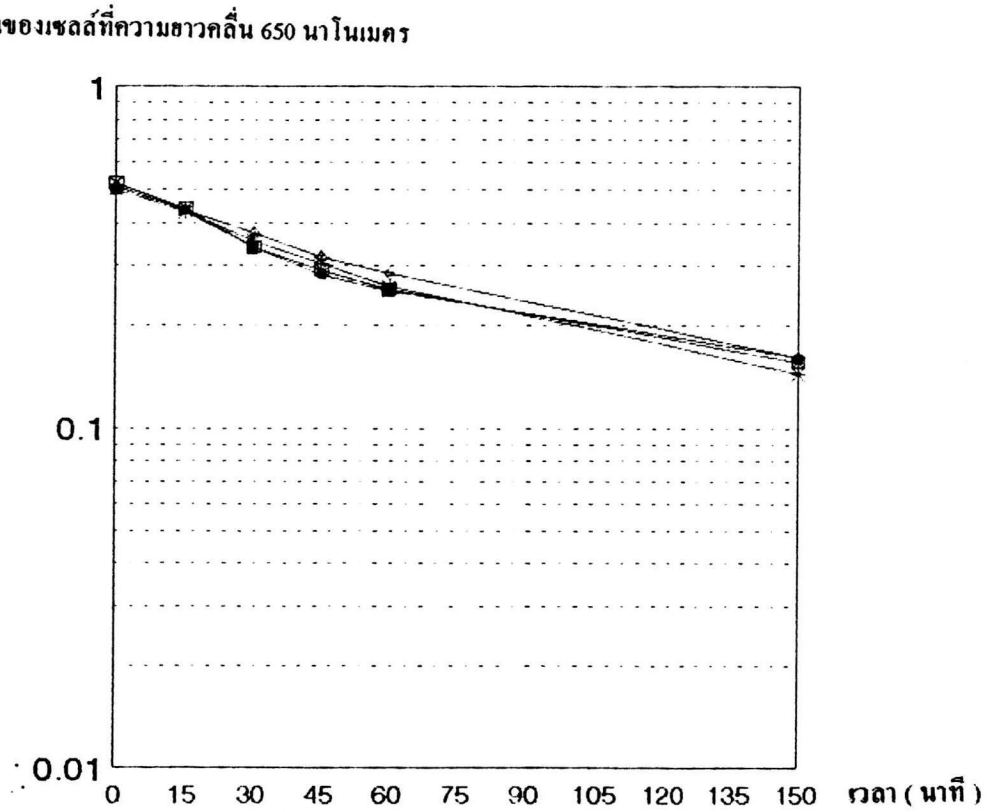
รูปที่ 14 แสดงผลของโบวีนซีรั่มอัลบูมินต่อการแตกของเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118
สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)
ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 ที่มีลิเทียมคลอไรด์เข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ (▲)
สารละลายโบวีนซีรั่มอัลบูมิน 0.0019 มิลลิกรัม (*) ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 ที่มีลิเทียมคลอไรด์เข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์
สารละลายโบวีนซีรั่มอัลบูมิน 0.137 มิลลิกรัม (☒) ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 ที่มีลิเทียมคลอไรด์เข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

ดังแสดงในรูปที่ 14 และตารางที่ 6 จะเห็นว่าปริมาณโปรตีนมีผลยับยั้งอัตราการแตกของเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 กล่าวคืออัตราเร็วของการแตกของเซลล์ลดลง ถ้ามีปริมาณโปรตีนในสารละลายสูงขึ้น

ตารางที่ 6 แสดงผลการยับยั้งอัตราเร็วของการแตกของเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 โดยโบวีน ซีรั่ม อัลบูมิน

สารละลายทดสอบ	อัตราเร็วของการแตกของเซลล์ ($X 10^{-2}$ ต่อนาที)
สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	8.7
สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีลิเทียมคลอไรด์ 40 มิลลิ-โมลาร์	9.4
โบวีนซีรั่มอัลบูมินเข้มข้น 0.0019 มิลลิกรัม ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีลิเทียมคลอไรด์	7.4
โบวีนซีรั่มอัลบูมินเข้มข้น 0.137 มิลลิกรัม ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีลิเทียมคลอไรด์	1.3

5.3 ผลการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียกรัมลบ



รูปที่ 15 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ในสารละลายทดสอบที่ระยะเวลาต่างๆ เอนไซม์ที่ทดสอบละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0

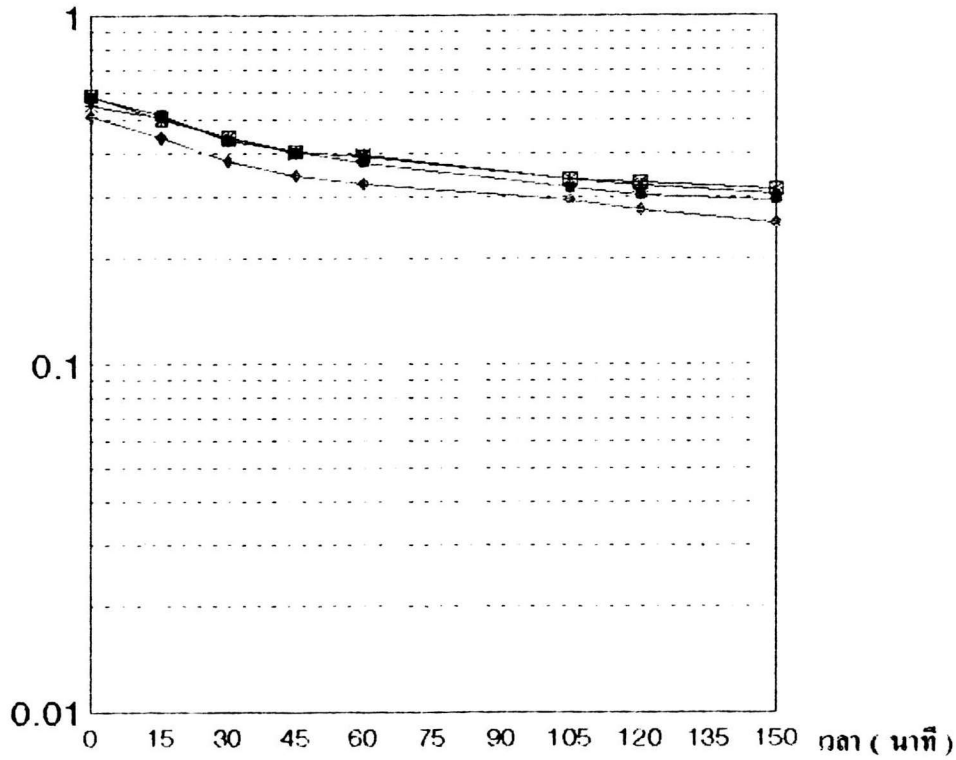
สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

สารละลายเอนไซม์ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (⊠)

สารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (✳)

สารละลายผสมระหว่างเอนไซม์ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรกับไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (◆)

ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



รูปที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ในสารละลายทดสอบที่ระยะเวลาต่างๆ เอนไซม์ที่ทดสอบละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

สารละลายเอนไซม์ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (⊠)

สารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (✱)

สารละลายผสมระหว่างเอนไซม์ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรกับไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (◆)

ตารางที่ 7 แสดงอัตราเร็วของการแตกของเซลล์และอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลายทดสอบต่างๆของ *Escherichia coli* TISTR 780 ซึ่งคำนวณตามสูตรจากรูปที่ 15

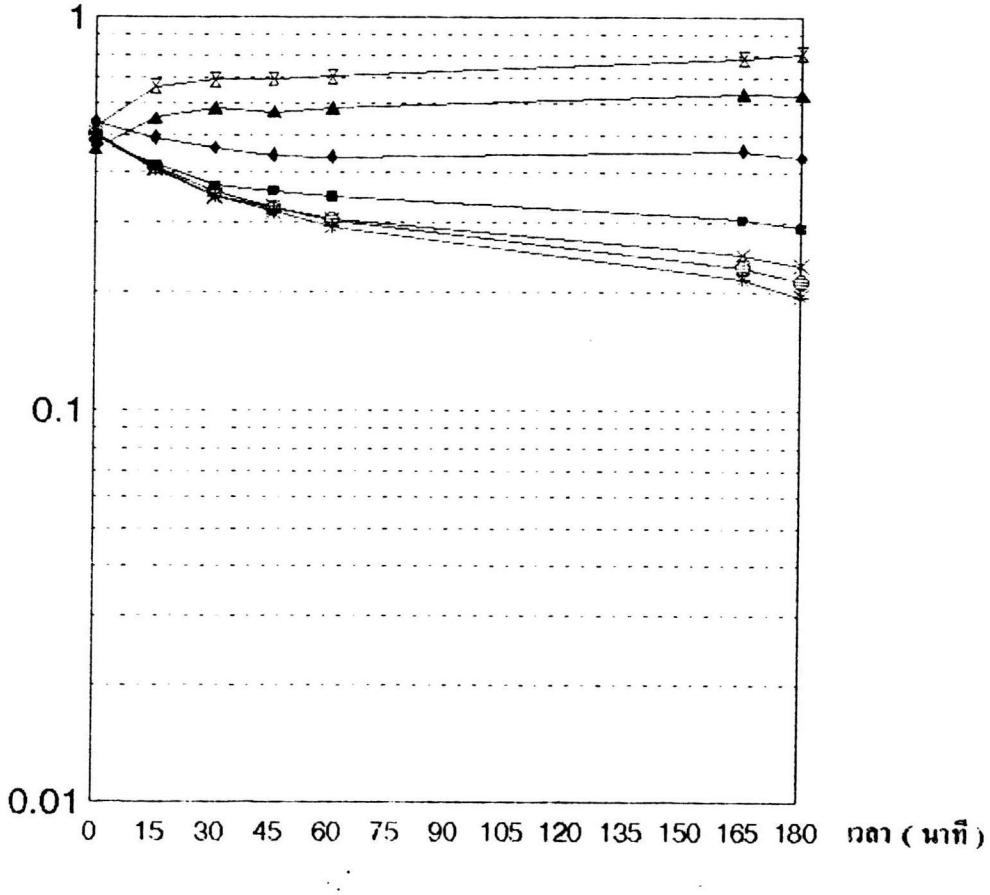
สารละลาย	อัตราเร็วของการแตกของเซลล์ ($X 10^{-2}$ นาที)	อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์
(1) สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	1.08	1.0
(2) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร	1.08	1.0
(3) ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร	1.08	1.0
(4) NA-L-alanineamidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร ร่วมกับไลโซไซม์ 100 หน่วย / มิลลิลิตร	1.08	1.0

ตารางที่ 8 แสดงอัตราเร็วของการแตกของเซลล์และอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ในสารละลายทดสอบต่างๆของ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ซึ่งคำนวณตามสูตรจากรูปที่ 16

สารละลาย	อัตราเร็วของการแตกของเซลล์ ($X 10^{-3}$ / นาที)	อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์
(1) สารละลายบัฟเฟอร์ทริส ไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	6.7	1.0
(2) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร	6.7	1.0
(3) ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์/มิลลิลิตร	6.7	1.0
(4) NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ / มิลลิลิตร ร่วมกับไลโซไซม์ 100 หน่วย / มิลลิลิตร	6.7	1.0

จากรูปที่ 15 , 16 ตารางที่ 7 , 8 จะเห็นว่าทั้ง *Escherichia coli* TISTR 780 และ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ไม่แตกในสารละลายเอนไซม์ใดๆที่ทำการทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการแตกของเซลล์ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิ-โมลาร์แต่เนื่องจากไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ที่มีรายงานว่าใช้ในการทำให้ *Escherichia coli* แตก (Maniatis, Fritsch and Sambrook,1982) โดยใช้ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรหรือในการทดสอบนี้คือ 10^6 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร จึงได้ทำการทดลองเพิ่มความเข้มข้นของไลโซไซม์ขึ้นเป็น 10^3 10^4 10^5 10^6 และ $2.0 X 10^6$ หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตามไม่พบการแตกของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 และ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ในทุกความเข้มข้นของไลโซไซม์ที่ทำการทดสอบ ดังแสดงผลในรูปที่ 17

ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



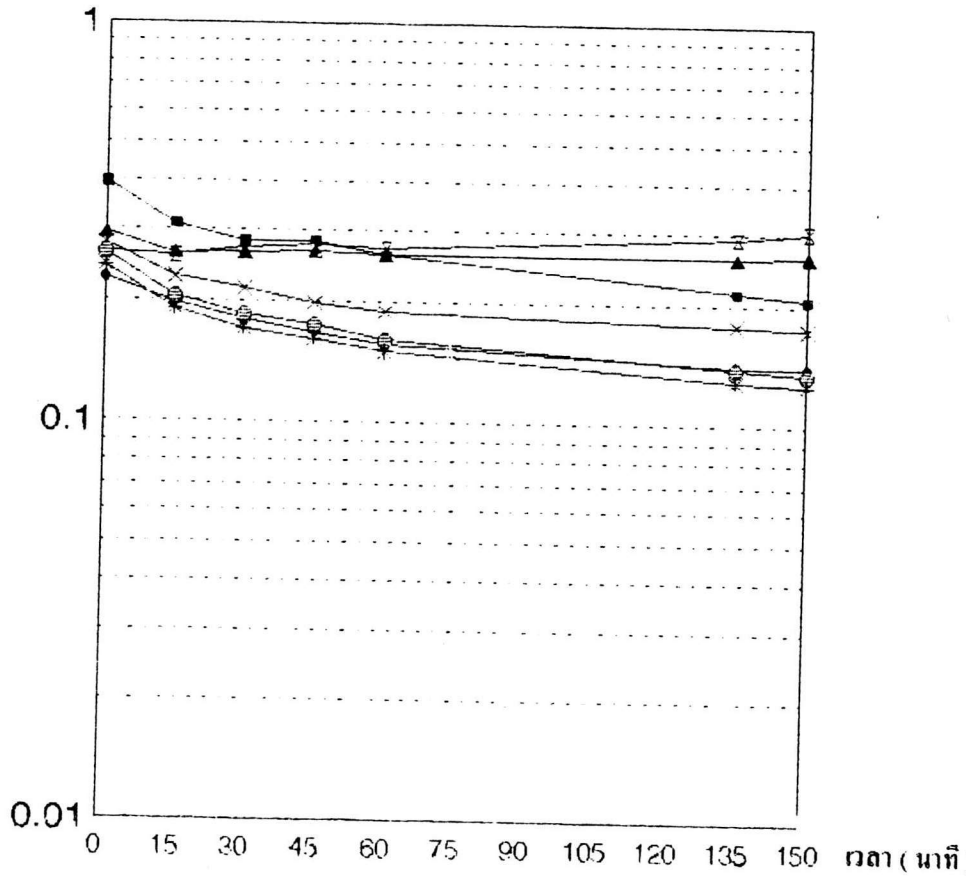
รูปที่ 17ก. แสดงผลของความเข้มข้นของไลโซไซม์ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ที่ระยะเวลาต่างๆ ไลโซไซม์ละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ :

สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

ไลโซไซม์เข้มข้น 10^2 (✳) 10^3 (●) 10^4 (×) 10^5 (◆) 10^6 (▲) และ 2×10^6 (⧖) หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร

ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



รูปที่ 17ข. แสดงผลของความเข้มข้นของไลโซไซม์ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ที่ระยะเวลาต่างๆ ไลโซไซม์ละลายอยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0

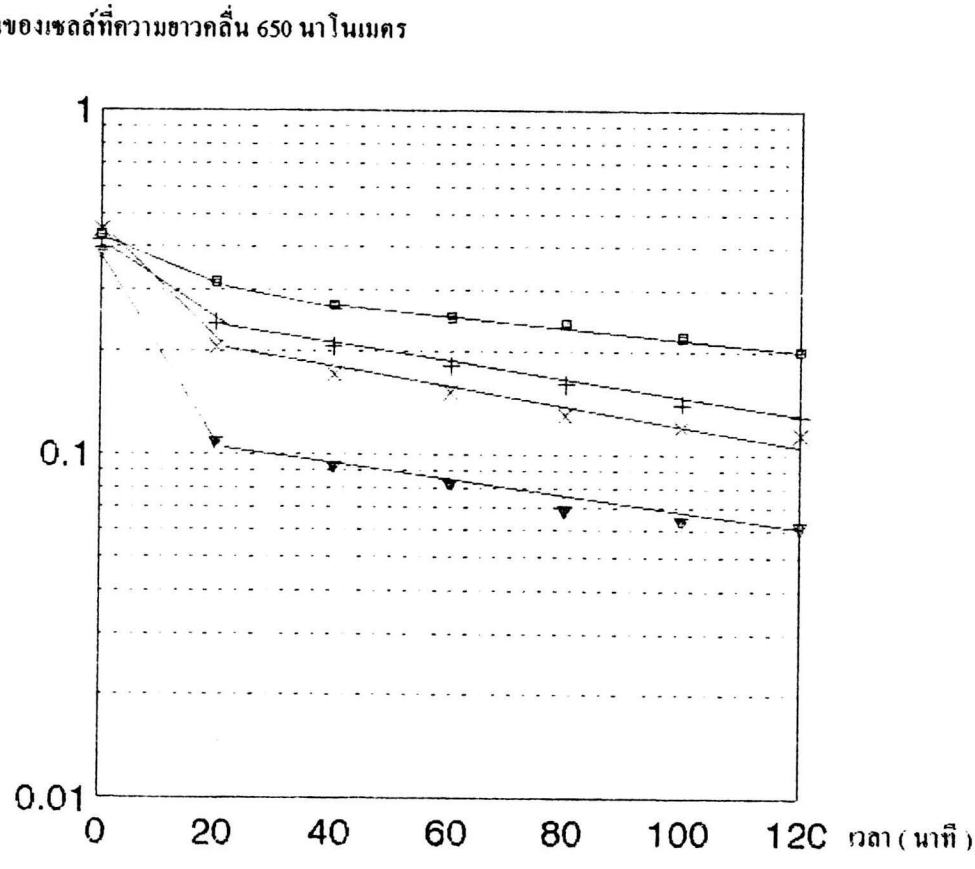
สัญญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ :

สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

ไลโซไซม์เข้มข้น 10^2(∗) 10^3 (ϴ) 10^4(×) 10^5 (◆) 10^6(▲) และ 2×10^6 (⧖) หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร

5.4 ผลของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตต่อการแตกของเซลล์ *Escherichia coli*

เนื่องด้วยมีรายงานการใช้ไลโซไซม์ในการให้เซลล์ *Escherichia coli* แตก โดยการบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์ ระยะเวลาหนึ่งแล้วจึงเติมสารลดแรงตึงผิว เช่น โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Godsonและ Sinshcimer,1967 ; Maniatis, Fritsch and Sambrook,1982) ไตรตอน เอกซ์ 100 (Schnaitman, 1971) ลงไปร่วมด้วย จึงได้ทำการศึกษาผลของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตต่อการแตกของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780



รูปที่ 18 แสดงผลของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงของความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ที่ระยะเวลาต่างๆ
สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)
สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 10 (+) 100(×) 500(▼) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรใน สารละลายบัฟเฟอร์ข้างต้น

ตารางที่ 9 แสดงอัตราเร็วของการแตกของเซลล์ และอัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ในสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งคำนวณตามสูตรจากรูปที่ 18

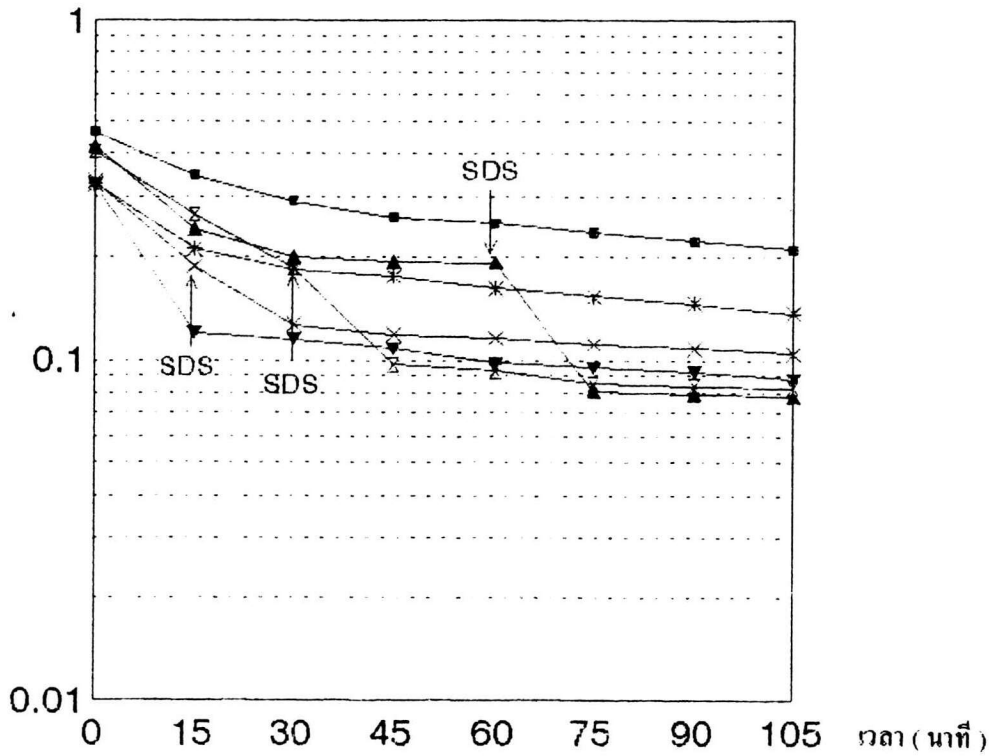
สารละลายที่ทดสอบ	อัตราเร็วของการแตกของเซลล์ ($X 10^2$ / นาที)	อัตราเร็วของการแตกสัมพัทธ์ของเซลล์
สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดร-คลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	1.6	1.0
โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต		
10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	2.79	1.74
100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	4.1	2.56
500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	6.2	3.87

จากรูปที่ 18 และตารางที่ 9 จะได้ว่าสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตสามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 เกิดการแตกได้ โดยอัตราเร็วของการแตกของเซลล์จะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตและอัตราเร็วของการแตกของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ในสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ $6.2 X 10^{-2}$ ต่อนาที อัตราเร็วสัมพัทธ์ของการแตกของเซลล์เท่ากับ 3.87 เนื่องด้วยความเข้มข้นของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ใช้ในการชักนำให้เซลล์ *Escherichia coli* แตกคือ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Maniatis *et.al.*, 1982) จึงเลือกใช้โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดลองต่อไป

5.5 ผลของระยะเวลาการบ่มเซลล์ในไลโซไซม์ต่อประสิทธิภาพของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ในการเหนี่ยวนำให้เซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 แตก

จากรูปที่ 19 และตารางที่ 10 เมื่อบ่มเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานต่างกันก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์นานกว่า เปอร์เซนต์การลดลงของความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร เมื่อเทียบกับที่เวลาเริ่มต้นจะมีค่ามากขึ้น พบว่าเมื่อบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์นาน 15, 30 และ 60 นาที เปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์เมื่อเทียบกับที่เวลาเริ่มต้น จะเพิ่มขึ้นจาก 66.4 79 และ 81.15 ตามลำดับ การบ่มเซลล์ไว้นานกว่า 60 นาทีอาจมีการปนเปื้อนของเซลล์แบคทีเรียอื่น ซึ่งจะมีผลทำให้ไม่สามารถใช้ค่าความขุ่นของเซลล์เป็นดัชนีบ่งบอกถึงการแตกของเซลล์ที่ทดสอบ ดังนั้นการศึกษาต่อไปจึงทำการบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์นาน 60 นาที ก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



รูปที่ 19 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร เมื่อบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลาต่างๆ กันแล้วจึงเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

ไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (✳)

โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (▼)

เติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังการบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 15 (×), 30 (⧖), และ 60 (▲) นาที ตามลำดับ ลูกศรแสดงเวลาที่เติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0

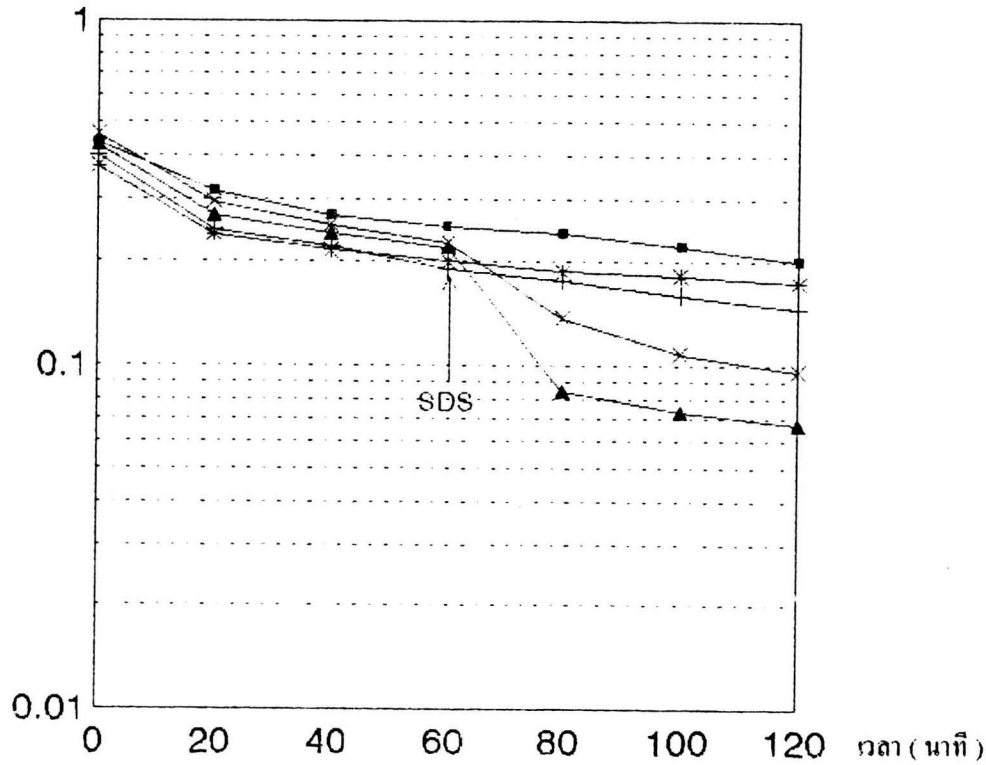
ตารางที่ 10 แสดงเปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ที่เวลา 75 นาที หลังการบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์เป็นเวลานานต่างๆกัน

สารละลาย	ค่าความขุ่นของเซลล์		
	ที่เวลา 0 นาที	ที่เวลา 75 นาที	ค่าความขุ่นลดลง (%)
สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	0.463	0.314	**32.18**
สารละลายไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.325	0.153	**52. 9**
สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	0.323	0.097	**71**
ระยะเวลาการบ่มเซลล์ในไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร ก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร			
15 นาที	0.331	0.111	**66. 4**
30 นาที	0.405	0.085	**79**
60 นาที	0.419	0.079	**81.15**

5.6 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่เติมหลังการบ่มเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ไว้ในไลโซไซม์นาน 60 นาที

จากรูปที่ 20 และตารางที่ 11 หลังการบ่มเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นสุดท้าย 0, 10, 100 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 80 นาที เปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร เมื่อเทียบกับที่ระยะเวลาเริ่มต้น 50 56 47 70 และ 80 ตามลำดับ ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจึงทำการบ่มเซลล์ในไลโซไซม์นาน 60 นาที แล้วจึงเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตลงไปที่ความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



รูปที่ 20 แสดงผลของความเข้มข้นของโซเดียมโคเคซิลซัลเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ซึ่งบ่มไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที

สัญลักษณ์ที่ใช้เป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8..0 (■)

ไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (✳)

เติมโซเดียมโคเคซิลซัลเฟตเข้มข้นสุดท้าย 10 (+), 100 (×), และ 500 (▲) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังการบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร

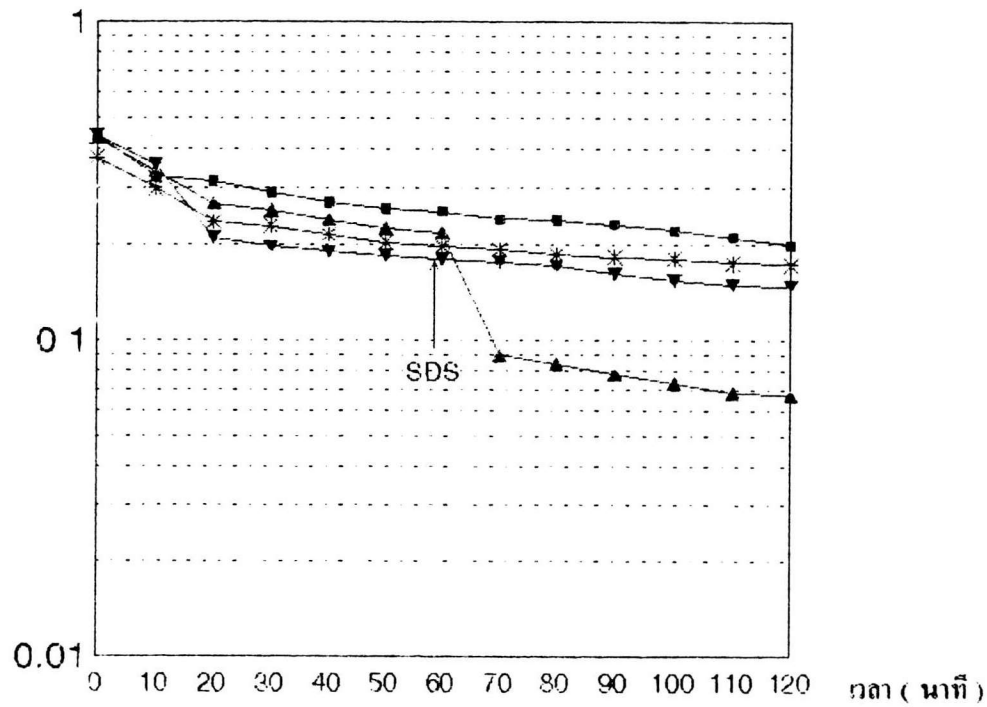
ลูกศรแสดงเวลาที่เติมโซเดียมโคเคซิลซัลเฟต

ตารางที่ 11 แสดงเปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตรที่เวลา 80 นาที หลังการบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์เป็นเวลา 60 นาทีก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารละลาย	ค่าความขุ่นของเซลล์		
	0 นาที	80 นาที	ค่าความขุ่นลดลง (%)
สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	0.436	0.24	**45**
ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.373	0.186	**50**
บ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร แล้วจึงเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ			
10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	0.402	0.175	**56. 47**
100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	0.462	0.137	**70**
500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	0.424	0.084	**80**

5.7 ผลของการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตให้แก่เซลล์ที่บ่มไว้ในไลโซไซม์ในการเหนี่ยวนำให้เซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 แตก

เนื่องจาก *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ไม่แตกในสารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเช่นเดียวกับ *Escherichia coli* TISTR 780 และ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 จึงทำการบ่มเซลล์ทั้ง 3 ชนิดข้างต้นไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรลงไป จากรูปที่ 21 และตารางที่ 12 จะเห็นว่าที่เวลา 100 นาที เปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 เมื่อเทียบกับที่ระยะเวลาเริ่มต้นเท่ากับ 83 มากกว่าในสารละลายไลโซไซม์และในสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตซึ่งมีค่าเพียง 51.47 และ 64.7 ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันจากรูปที่ 22 และตารางที่ 12 ผลการทดสอบกับเซลล์ *Klebsiella pneumonise* IFO 3317 เปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ที่เวลา 100 นาที เมื่อเทียบกับที่ระยะเวลาเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 67.29 มากกว่าในสารละลายไลโซไซม์และในสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตซึ่งมีค่าเพียง 45.45 และ 63.37 ตามลำดับ ส่วนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตหลังการบ่มเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ไว้ในไลโซไซม์เป็นเวลา 60 นาที มีผลทำให้ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ระยะเวลา 100 นาทีซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.429 เพิ่มมากขึ้นเป็น 0.535 ซึ่งเกือบเท่ากับค่าความขุ่นของเซลล์ที่ระยะเวลาเริ่มต้นที่มีค่าเท่ากับ 0.544 ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างจากแบคทีเรียทั้งสองชนิดข้างต้นที่ทดสอบ



รูปที่ 21 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตรในสารละลายที่ทดสอบ ที่ระยะเวลาต่างๆ

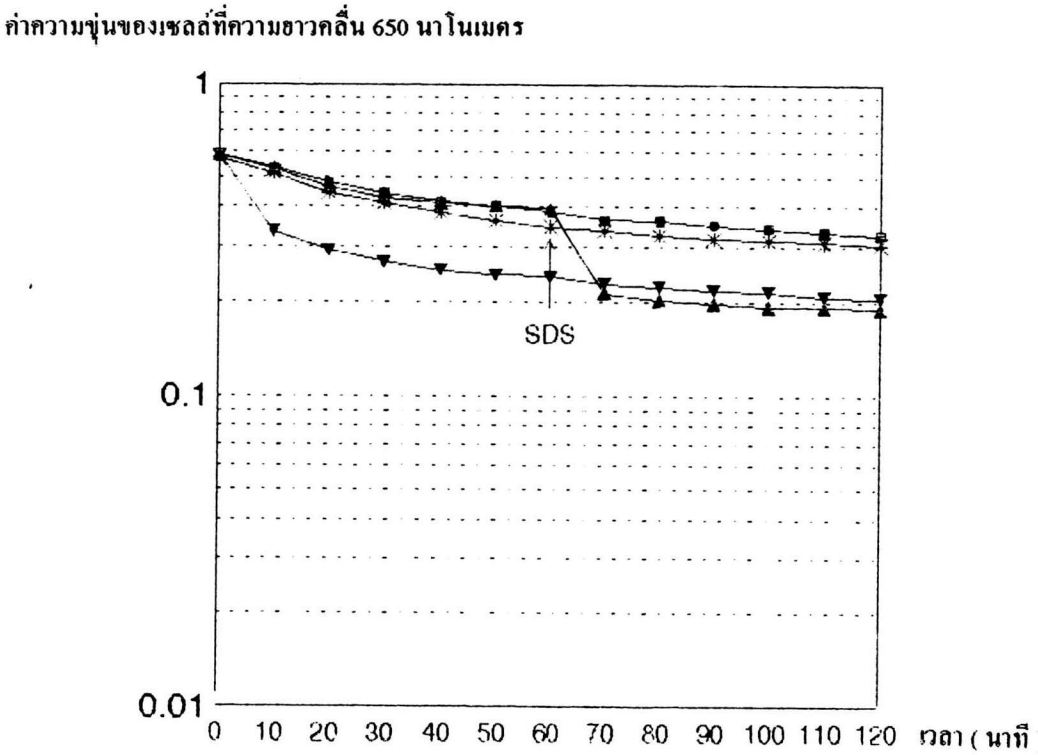
สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

ไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (✳)

สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (▼)

เติมสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรหลังจากบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที (▲)

ลูกศรแสดงเวลาที่เติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต



รูปที่ 22 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตรในสารละลายที่ทดสอบ ที่ระยะเวลาต่างๆ

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

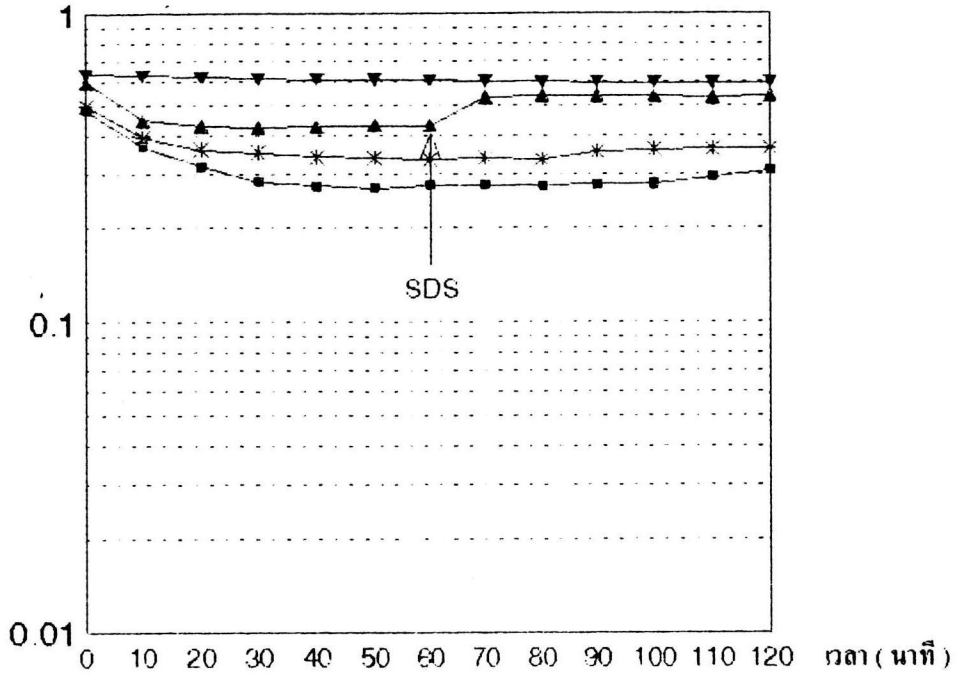
ไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (*)

สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (▼)

เติมสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรหลังจากบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที (▲)

ลูกศรแสดงเวลาที่เติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



รูปที่ 23 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตรในสารละลายที่ทดสอบ ที่ระยะเวลาต่างๆ

สัญลักษณ์ที่ใช้ในรูปเป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

ไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (✳)

สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (▼)

เติมสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรหลังจากบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์เข้มข้น 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที (▲)

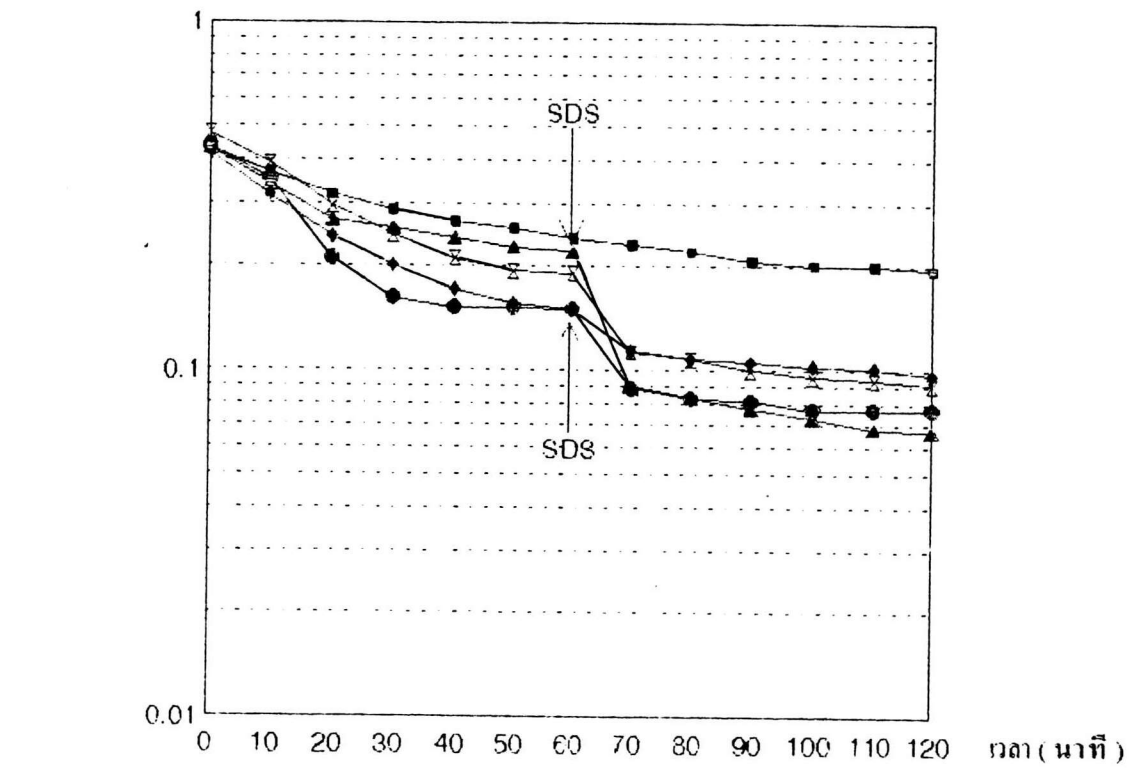
ลูกศรแสดงเวลาที่เติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

ตารางที่ 12 แสดงเปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 และ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร หลังการบ่มเซลล์ไว้ในภาวะต่างๆ เป็นเวลา 100 นาที

สารละลาย	ค่าความขุ่นของเซลล์ *E.coli* TISTR 780			ค่าความขุ่นของเซลล์ *K.pneumoniae* IFO 3317		
	0 นาที	100 นาที	ค่าความขุ่นลดลง (%)	0 นาที	100 นาที	ค่าความขุ่นลดลง (%)
1. สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	0.436	0.221	**49. 31**	0.589	0.35	**40. 58**
2. ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.373	0.181	**51. 47**	0.572	0.312	**45. 45**
3.โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 500ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	0.439	0.155	**64.7**	0.587	0.215	**63. 37**
เดิมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต500ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรหลังจากบ่มเซลล์ไว้ในไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที	0.429	0.073	**83**	0.587	0.192	**67. 29**

5.8 ผลของการบ่มเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 หรือ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ใน NA-L-alanine amidase กึ่งบริสุทธิ์ที่เตรียมได้ ต่อการชักนำให้เซลล์แตกโดยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

จากรูปที่ 24 และตารางที่ 13 หลังการบ่มเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ไว้ในสารละลาย NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร สารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร หรือสารละลายผสมระหว่าง NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรและไลโซไซม์เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 100 นาที เปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร มีค่าเท่ากับ 80 75.3 83 และ 82 ตามลำดับ แสดงว่าการบ่มเซลล์ไว้ในสารละลาย NA-L-alanine amidase ก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต มีผลชักนำให้เซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 แตกโดยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตได้มากขึ้นเช่นเดียวกันกับไลโซไซม์ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ระหว่าง NA-L-alanine amidase และไลโซไซม์



รูปที่ 24 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ที่ระยะเวลาต่างๆ หลังการบ่มเซลล์ไว้ใน NA-L-alanine amidase ไลโซไซม์ หรือ NA-L-alanine amidase ร่วมกับไลโซไซม์เป็นเวลา 60 นาที ก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สัญลักษณ์ที่ใช้เป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

สารละลาย NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร(⧖)

สารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 10 (◆), 100 (▲) หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร

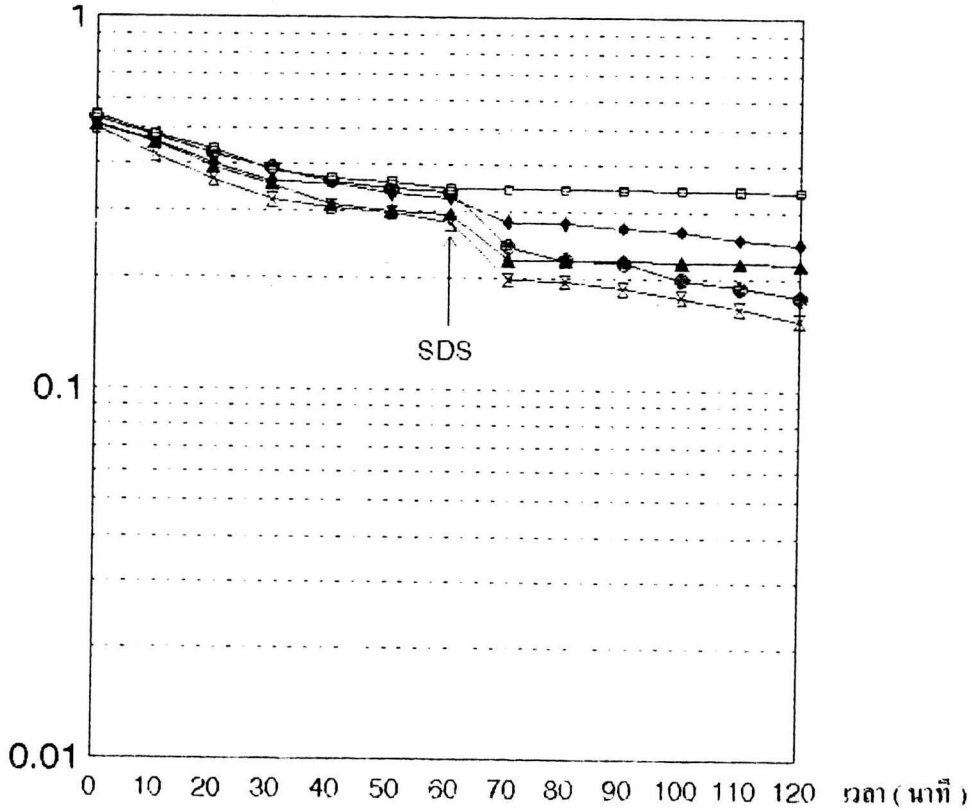
สารละลายผสมของ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรกับไลโซไซม์เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (●)

ตารางที่ 13 แสดงเปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ *Escherichia coli* TISTR 780 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ที่ระยะเวลา 100 นาที หลังการบ่มเซลล์ไว้ใน NA-L-alanine amidase ไลโซไซม์ หรือ NA-L-alanine amidase ร่วมกับไลโซไซม์เป็นเวลา 60 นาที ก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

สารละลาย	ค่าความขุ่นของเซลล์		
	0 นาที	100 นาที	ค่าความขุ่นลดลง (%)
1. สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	0.43	0.2	**53. 5**
2. โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมหลังการบ่มเซลล์ไว้ใน			
NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.475	0.096	**80**
ไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.417	0.103	**75. 3**
ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.429	0.073	**83**
NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.436	0.077	**82**

จากรูปที่ 25 และตารางที่ 14 เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร หลังการบ่มเซลล์ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ไว้ใน NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร ไลโซไซม์เข้มข้น 10 และ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร สารละลายผสมระหว่าง NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรและไลโซไซม์เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที แล้วจึงเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 100 นาที เปอร์เซนต์การลดลงของค่าความขุ่นของเซลล์ มีค่าเท่ากับ 64.6 47.7 56.8 และ 63 ตามลำดับ แสดงว่าการบ่มเซลล์ไว้ในสารละลาย NA-L-alanine amidase ก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต มีผลชักนำให้เซลล์ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 แตกโดยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตได้มากขึ้นเช่นเดียวกันกับไลโซไซม์ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ระหว่าง NA-L-alanine amidase และไลโซไซม์

ค่าความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



รูปที่ 25 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความขุ่นของเซลล์ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ที่ระยะเวลาต่างๆ หลังการบ่มเซลล์ไว้ใน NA-L-alanine amidase ไลโซไซม์ หรือ NA-L-alanine amidase ร่วมกับไลโซไซม์เป็นเวลา 60 นาที ก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สัญลักษณ์ที่ใช้เป็นดังนี้ : สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 (■)

สารละลาย NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร(⧖)

สารละลายไลโซไซม์เข้มข้น 10 (◆), 100 (▲) หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร

สารละลายผสมของ NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตรกับไลโซไซม์เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร (○)

ตารางที่ 14 แสดงเปอร์เซนต์การลดลงค่าความขุ่นของเซลล์ *Klebsiella pneumoniae* IFO 3317 ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ที่ระยะเวลา 100 นาที หลังการบ่มเซลล์ไว้ใน NA-L-alanine amidase ไลโซไซม์ หรือ NA-L-alanine amidase ร่วมกับไลโซไซม์เป็นเวลา 60 นาที ก่อนการเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นสุดท้าย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารละลาย	ค่าความขุ่นของเซลล์		
	0 นาที	100 นาที	ค่าความขุ่นลดลง (%)
1. สารละลายบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 8.0	0.54	0.342	**36.7**
2. โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมหลังการบ่มเซลล์ไว้ใน			
NA-L-alanine amidase 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.5	0.177	**64. 6**
ไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.509	0.266	**47.7**
ไลโซไซม์ 100 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.509	0.22	**56. 8**
NA-L-alanine amidase เข้มข้น 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับไลโซไซม์ 10 หน่วยเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร	0.53	0.198	**63**