

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	13
บทที่ 4 ผลการทดลอง	24
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง	53
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	61
บรรณานุกรม	62
ภาคผนวก	66
ภาคผนวก ก พืชสมุนไพร	67
ภาคผนวก ข สีย้อม	88
ภาคผนวก ค น้ำยาทดสอบ	89
ภาคผนวก ง อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีเตรียม	90
ภาคผนวก จ กราฟมาตรฐานและวิธีการวัดปริมาณเอนไซม์	95
ประวัติผู้เขียน	101

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	จำนวนฟังใจที่แยกได้จากพืชสมุนไพรแต่ละชนิดบนอาหาร ME agar ที่ผสม rose bengal กับ chloramphenicol ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน	25
2	จำนวนฟังใจที่สามารถผลิต แอล-แอสพาราจินเนส บนอาหาร modified Czapek dox's agar ที่มี phenol red เป็นอินดิเคเตอร์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยสังเกตจากการสร้างวงสีชมพูรอบ ๆ โคลอนีของฟังใจ	27
3	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี และวงสีชมพู การทำงานของ แอล-แอสพาราจินเนส ของฟังใจไอโซเลท LcSITw1-3, BaRfTw2-4, BaRfTw2-5, และ XT 2-9	29
4	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของฟังใจ BaRfTw2-4 บนอาหารแข็ง 4 ชนิด ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	32
5	การสร้างสปอร์ของฟังใจ BaRfTw2-4 บนอาหารแข็ง 4 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 วัน ภายใต้สภาวะแสงปกติ	33
6	การสร้างสปอร์ของฟังใจ BaRfTw2-4 บนอาหารแข็ง 4 ชนิด เป็นเวลา 30 วัน ภายใต้รังสี near UV	33
7	น้ำหนักแห้งของฟังใจ BaRfTw2-4 นอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด ในการเตรียมเป็นกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	34
8	น้ำหนักแห้งของฟังใจ BaRfTw2-4 บนอาหารแข็ง 4 ชนิด ในการเตรียมเป็นกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า	

ตาราง	หน้า
	ด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 34
9	การทำงานของ แอล-แอสพาราจินเนส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบ ต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยใช้กล้าเชื้อในปริมาณต่าง ๆ ใน PDB (seed medium) 36
10	การทำงานของ แอล-แอสพาราจินเนส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth ที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยใช้แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ 7 ชนิด 38
11	การทำงานของ แอล-แอสพาราจินเนส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth ที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในปริมาณต่าง ๆ 40
12	การทำงานของ แอล-แอสพาราจินเนส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v)) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยใช้แอล-แอสพาราจีน เป็นแหล่งไนโตรเจนในปริมาณต่าง ๆ 42
13	การทำงานของ แอล-แอสพาราจินเนส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจีน 0.6 %(w/v)) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยใช้ค่า พี เอช เริ่มต้นต่าง ๆ 44

ตาราง	หน้า	
14	<p>การทำงานของ แอล-แอสพาราจิเนส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจิน 0.6 %(w/v)) เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ</p>	46
15	<p>การทำงานของ แอล-แอสพาราจิเนส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจิน 0.6 %(w/v)) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยใช้ระยะเวลาต่างๆ</p>	48
16	<p>เปรียบเทียบค่าการทำงานของ แอล-แอสพาราจิเนส (enzyme activity และ specific activity) ของฟังไจ <i>Xylaria</i> sp. BaRfTw2-4 และ <i>Fusarium</i> KLICRb9-1 ในอาหาร modified Czapek dox's broth ที่ประกอบด้วย กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจิน 0.6 %(w/v) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง</p>	50
17	<p>สรุปค่าปริมาณต่างๆ ที่เหมาะสมในการผลิต แอล-แอสพาราจิเนส ของฟังไจ BaRfTw2-4</p>	52
18	<p>เปรียบเทียบของการทำงานของ แอล-แอสพาราจิเนส (IU/ml) ของเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด เมื่อใช้แหล่งคาร์บอน ชนิดต่างๆ</p>	55
19	<p>เปรียบเทียบการทำงานของ แอล-แอสพาราจิเนส (IU/ml) ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ</p>	58
20	<p>ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (mol/l)</p>	

ญ

ตาราง		หน้า
	กับค่าการดูดกลืนแสง	95
21	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ โปรตีน (bovine serum albumin) (mg/ml) กับค่าการดูดกลืนแสง	99

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

รูป	หน้า
17 การทำงานของ แอล-แอสพาราจินัส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยใช้กลูโคสแหล่งคาร์บอนในปริมาณต่าง ๆ	41
18 ค่า พี เอช สุดท้ายของอาหาร modified Czapek dox's broth หลังจากเลี้ยงเชื้อครบ 96 ชั่วโมง เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ของฟังไจ BaRfTw2-4 โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในปริมาณต่าง ๆ	41
19 การทำงานของ แอล-แอสพาราจินัส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v)) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยใช้ แอล-แอสพาราจิน เป็นแหล่งไนโตรเจนในปริมาณต่าง ๆ	43
20 ค่า พี เอช สุดท้ายของอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v)) หลังจากเลี้ยงเชื้อครบ 96 ชั่วโมง เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ของฟังไจ BaRfTw2-4 โดยใช้ แอล-แอสพาราจิน เป็นแหล่งไนโตรเจนในปริมาณต่าง ๆ	43
21 การทำงานของ แอล-แอสพาราจินัส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจิน 0.6 %(w/v)) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยใช้ค่า พี เอช เริ่มต้นต่าง ๆ	45
22 ค่า พี เอช สุดท้ายของอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจิน 0.6 %(w/v)) หลังจากเลี้ยงเชื้อครบ 96 ชั่วโมง เขย่าด้วยความเร็ว	

รูป	หน้า
150 รอบต่อหน้าที่ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ของ ฟังไจ BaRfTw2-4 โดยใช้ค่า พี เอช เริ่มต้นต่าง ๆ	45
23 การทำงานของ แอล-แอสพาราจินัส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยบ่มที่ อุณหภูมิต่าง ๆ	47
24 ค่า พี เอช สุดท้ายของอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจินัส 0.6 %(w/v)) หลังจาก เลี้ยงเชื้อครบ 96 ชั่วโมง เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ของฟังไจ BaRfTw2-4 โดยบ่มที่ อุณหภูมิต่าง ๆ	47
25 การทำงานของ แอล-แอสพาราจินัส (IU/ml) ของฟังไจ BaRfTw2-4 ในอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจินัส 0.6 %(w/v)) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยใช้ ระยะเวลาต่าง ๆ	49
26 ค่า พี เอช สุดท้ายของอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจินัส 0.6 %(w/v)) เขย่า ด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ของฟังไจ BaRfTw2-4 หลังจากเลี้ยงเชื้อครบในระยะเวลาต่าง ๆ	49
27 ค่า enzyme activity (IU/ml) ของ <i>Xylaria</i> sp. BaRfTw2-4 และ <i>Fusarium</i> KLICRb9-1 ในอาหาร modified Czapek dox's broth ที่ประกอบด้วยกลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจินัส 0.6%(w/v) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง	51

รูป	หน้า
28 ค่า specific activity (IU/ml) ของ <i>Xylaria</i> sp. BaRfTw2-4 และ <i>Fusarium</i> KLICRb9-1 ในอาหาร modified Czapek dox's broth ที่ประกอบด้วยกลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจีน 0.6%(w/v) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง	51
29 ค่า พี เอช สุดท้ายของอาหาร modified Czapek dox's broth (กลูโคส 0.4 %(w/v) แอล-แอสพาราจีน 0.6 %(w/v) เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ของฟังไจ <i>Xylaria</i> sp. BaRfTw2-4 และ <i>Fusarium</i> sp. KLICRb 9-1	52
30 กราฟมาตรฐานของสารละลาย ammonium sulphate ((NH ₄) ₂ SO ₄)	96
31 กราฟมาตรฐานของสารละลาย bovine serum albumin	99

อักษรย่อและสัญลักษณ์

$^{\circ}\text{C}$	=	องศาเซลเซียส
cm	=	เซนติเมตร
g	=	กรัม
hrs	=	ชั่วโมง
IU/ml	=	ไอยูนิตต่อมิลลิลิตร
l	=	ลิตร
mg	=	มิลลิกรัม
mg/ml	=	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
min	=	นาที
ml	=	มิลลิลิตร
mol	=	โมล
rpm	=	รอบต่อนาที
v/v	=	ปริมาตรต่อปริมาตร
w/v	=	น้ำหนักต่อปริมาตร
μmol	=	ไมโครโมล