นายเคนตะ วะคุอิ :การย่อยไบโอฟิล์มที่เกิดจากแบคทีเรียโดยใช้อะไมเลสที่สกัดจากจุลินทรีย์ในดิน (BACTERIAL BIOFILM DEGRADATION USING AMYLASE EXTRACTED FROM SOIL MICROORGANISMS).
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นวรัตน์ นันทพงษ์, 68 หน้า.

ไบโอฟิล์ม คือ สารเมทริกซ์ที่อยู่ล้อมรอบเซลล์ของแบคทีเรีย เชื้อรา และโปรโตซัว ซึ่งก่อให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อในอุปกรณ์ทางการแพทย์และสายการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม การกำจัดไบโอฟิล์มอย่างสมบูรณ์นั้นทำได้ยากเนื่องจากคุณสมบัติของ exopolysaccharide ที่สามารถก่อตัวขึ้นได้ใหม่จากไบโอฟิล์มที่ตกค้างหลังการบำบัด เอนไซม์อัลฟ่าอะไมเลสถูกนำมาศึกษาเพื่อใช้เป็นสารชีวภาพทางเลือกที่มีศักยภาพในการสลายไบโอฟิล์มที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม การใช้เอนไซม์อะไมเลสร่วมกับสารบำบัดชนิดอื่น ๆ อาจส่งผลให้การย่อยสลายไบโอฟิล์มเกิดได้ดีขึ้น

การศึกษานี้ได้ทำการสกัดเอนไซม์อะไมเลสโดยใช้วิธีการหมักบนอาหารแข็งจากจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินในจังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย ซึ่งเอนไซม์อะไมเลสจะถูกทำให้บริสุทธิ์โดยใช้การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ตามด้วยการประเมินกิจกรรมของอะไมเลสที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ การประเมินคุณสมบัติการย่อยไบโอฟิล์มด้วยอะไมเลสทำได้โดยให้เชื้อ *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus epidermidis* สร้างไบโอฟิล์มในจานหลุมขนาด 96 หลุม ตามด้วยการบำบัดด้วยอะไมเลสที่สกัดจากจุลินทรีย์ที่แยกมาจากดิน การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์จากดินที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสทำได้โดยการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rRNA โดยพบว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้คือ *Bacillus tequilensis* และ *Bacillus subtilis* ผลการทดลองพบว่าอะไมเลสที่แยกได้จากจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถย่อยไบโอฟิล์มได้ในช่วง 60 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาวิจัยในอนาคตควรทำการตรวจสอบอะไมเลสที่สกัดจากจุลินทรีย์ที่แยกมาจากดินแหล่งต่าง ๆ ที่หลากหลายเพื่อให้ได้การย่อยไบโอฟิล์มที่ดีขึ้น

สาขาวิชาปรีคลินิก ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

KENTA WAKUI : BACTERIAL BIOFILM DEGRADATION USING AMYLASE EXTRACTED FROM SOIL MICROORGANISMS.
THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NAWARAT NANTAPONG, Ph.D. 68 PP.

BIOFILM/AMYLASE/EXTRACTION/ACTIVITY/
SOLID STATE FERMENTATION/DEGRADATION

Biofilm, a matrix that encloses bacteria, fungi, and protozoa are associated with infection of medical devices and production lines of factories. The complete removal of biofilms with current ways of treatments is difficult due to the characteristic of exopolysaccharide. Small residues of biofilm after treatment will allow them for the reformation of biofilm on the attached surface. Alpha-amylase was studied as a candidate for biofilm treating agents from its potential to remove biofilm and also the environmentally friendly characteristic, the combinations of several treating agents with amylase may result in better biofilm degradation.

In this study, amylase was extracted from microorganisms isolated from soil of Nakhon Ratchasima province, Thailand by using solid-state fermentation to evaluate the biofilm degrading activity of amylase extracted from soil microorganisms. The extracted amylases were purified using ammonium sulfate precipitation, and the purified amylases were evaluated for their activities. The biofilm from *S. aureus*, *P. aeruginosa*, and *S. epidermidis* was formed on 96 well microtiter plates and treated with extracted amylase to evaluated the biofilm degrading activity of amylase extracted from soil isolates. The identification of species of the isolates was achieved

by using 16S rRNA sequence analysis. The isolates were revealed to be *Bacillus tequilensis* and *Bacillus subtilis*. As a result of biofilm degradation assay, amylases extracted from soil isolates were successfully reduced biofilm at the range of 60 to 70 percent. Future studies should investigate the extraction of amylase from a variety of soil isolates for better biofilm degradation.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Preclinic Student's Signature_____

Academic Year 2019 Advisor's Signature_____