230927

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างดินและน้ำที่มีการปนเปื้อนด้วยเมล็ดมัสตาร์ดจำนวน 300 ตัวอย่าง มาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นซินิกริน พบเชื้อราจำนวน 11 ชนิดและแบคทีเรียจำนวน 15 ชนิด ที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารซินิกริน เมื่อนำเชื้อราและแบคทีเรียดังกล่าวไปเลี้ยงในอาหารเหลวสารสกัดมัสตาร์ดเข้มข้น 20% (w/v) ที่ pH 6.5 อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 ชั่วโมง ในเครื่องเขย่า แล้วทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ บดเซลล์และตรวจสอบเอนไซม์ไมโรซิเนสภายในเซลล์ พบเชื้อราจำนวน 6 ชนิด(fungus No.1,5,7,9,10,11)ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสารสกัดมัสตาร์ดและผลิตเอนไซม์ไมโรซิเนสภายในเซลล์ ส่วนเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้โดยใช้กลูโคซิโนเลตในสารสกัดมัสตาร์ดแต่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ไมโรซิเนส เมื่อนำเอนไซม์ไมโรซิเนสที่เชื้อราผลิตได้ไปทำการคาตาไลซ์สับสเตรทซินิกรินหรือกลูโคซิโนเลตในสารสกัดมัสตาร์ดพบว่าเอนไซม์สามารถคาตาไลซ์สับสเตรทได้ผลิตภัณฑ์อัลลิลไอโซไธโอไซยาเนท(AIT)

ในการตรวจสอบหาจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไมโรซิเนสอย่างรวดเร็วทำได้โดยนำจุลินทรีย์มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นซินิกรินแบเรียมคลอไรด์ พบเชื้อรา 6 ชนิด(fungus No.1,5,7,9,10,11) ให้ผลบวกอย่างชัดเจนโดยเกิดแถบขุ่นขาวของแบเรียมซัลเฟต

เมื่อนำเชื้อรา No.1(ตรวจสอบตามวิธีของ Raper เป็นเชื้อรา *Aspergillus flavus*)ซึ่งเป็นเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์ไมโรซิเนสได้ปริมาณมากที่สุดมาทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไมโรซิเนส พบสภาวะที่เหมาะสมคือ การเลี้ยงเชื้อรา ที่มีอายุ 2-4 สัปดาห์, inoculum size 1x 10^6spores/ml,pH 6.5,อุณหภูมิ 28-31°C และช่วงเวลาเลี้ยงนาน 40 ชั่วโมง

Abstract

230927

300 samples of decayed mustard seed meal (solid and liquid) were collected and cultured on sinigrin agar plate. 11 fungal strains and 15 bacterial strains were isolated and maintained on potato dextrose agar. The microorganisms were inoculated to erlenmeyer flask containing mustard extract (20% w/v, pH 6.5) and maintained at 31 °C for 40 hr. under shaking water bath. The cells were harvested, grinded and assayed for myrosinase activity. 6 fungal isolates (No. 1, 5, 7, 9, 10, 11) were able to grow in mustard extract and produce intracellular myrosinase . However, all kinds of bacteria consumed glucosinolate in mustard extract but they could not produce myrosinase activity. When intracellular myrosinase from fungal cells were incubated with sinigrin or glucosinolate in mustard extract, allyl isothiocyanate (AIT) was formed.

Rapid screening tests using singrin barium chloride agar plate were under taken to obtain microoganism which produced myrosinase. 6 fungal isolates (No. 1, 5, 7, 9, 10, 11) were positive with sinigrin barium chloride and showed white precipitation zone.

The fungal No.1 producing high myrosinase activity which identified according to Raper and Funnell as *Aspergillus flavus* group was used to conduct on the optimum culture conditions for myrosinase production. The optimum conditions were at 2-4 weeks spore age, inoculum size 1 x 10^6 spores/ ml, pH 6.5, temperature 28-30 ° C and 40 hr incubation time.