

นิตา ร่มสัมชา 2552: สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้ลอกกาวยหมจาก *Bacillus* sp. C4 โดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) สาขา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาควิชาจุลชีววิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ปทุมพร นิมนต์, Dr.Eng. 152 หน้า

Bacillus sp. C4 เป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำทิ้งของโรงงานผลิตเส้นไหม ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสสำหรับลอกกาวยหมได้ดีที่สุด วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ ก็เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและผลิตโปรติเอสจาก C4 โดยเริ่มจากการคัดเลือกวัตถุดิบ และพบว่าแป้งมันไฮโดรไลซ์ แป้งถั่วเหลือง และ skim milk เป็นแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และสารเหนียวที่เหมาะสมตามลำดับ จากนั้นทำการกลั่นกรองปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอส โดยใช้ Plackett-Burman design ซึ่งปัจจัยที่นำมาศึกษามี 7 ชนิด คือ แป้งมันไฮโดรไลซ์ แป้งถั่วเหลือง skim milk พีเอชเริ่มต้น อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง ความเร็วรอบในการเขย่า และปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้น พบว่าปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสใน Modified BMSM medium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) คือ แป้งถั่วเหลือง และ skim milk เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสโดยวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) และวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) โดยปัจจัยที่นำมาศึกษา คือ ปริมาณแป้งถั่วเหลือง ปริมาณ skim milk และความเร็วยรอบในการเขย่า พบว่าแบบจำลองมีความแม่นยำสูงสามารถอธิบายความแปรปรวนได้ 91.2 เปอร์เซ็นต์ โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่ทำให้ค่าทำนาย (จากแบบจำลอง) ของกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสสูงสุด (1,575.5 units/ml) คือ แป้งถั่วเหลือง 2.0 เปอร์เซ็นต์ (w/v) skim milk 0.1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และความเร็วยรอบในการเขย่า 280 rpm ส่วนค่าสังเกตของกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสสูงสุด เท่ากับ 1,536.9 units/ml ซึ่งมากกว่าเมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเดิม (729.0 units/ml) ถึง 2.2 เท่า นอกจากนี้ยังได้เพาะเลี้ยง C4 ในถังหมักขนาด 2.0 ลิตร เพื่อเป็นการยืนยันความสำคัญของการให้อากาศต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสจาก C4 โดยควบคุมสภาวะการเพาะเลี้ยงในถังหมักที่พีเอช 7.5 อัตราการกวน 350 rpm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 2 vvm และค่าการละลายของออกซิเจนในถังหมัก เท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ ให้คงที่ตลอดการทดลอง สามารถเพิ่มผลผลิตของเอนไซม์โปรติเอสเป็น 1,898.1 units/ml โดยกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น 1.2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงในอาหาร BMSM ที่เหมาะสมในฟลาสก์ (1,575.5 units/ml)