

ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการพัฒนาเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการใช้ผลิตพรีไบโอติกจากกากมะพร้าวเป็นอย่างดี โดยเอนไซม์ที่ได้พัฒนาขึ้นคือ เอนไซม์ มานานเนส ที่เตรียมได้จากจุลชีพ ๔ ชนิด คือ เชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ในเจอร์ ปิเคโอวัน เชื้อแบคทีเรีย บาซิลลัส ไลเคนิฟอร์มิส คีเอสเอ็ม ๘๗๘๕ และ ๑๓ และ บาซิลลัส สับซิลิส ๑๖๘ วิธีการที่ใช้ในการพัฒนาคือวิธีการทางพันธุวิศวกรรมที่เริ่มตั้งแต่การโคลนยีนขึ้นมาด้วยเทคโนโลยีพีซีอาร์ จากนั้นนำยีนที่ได้ไปแสดงออกเพื่อผลิตให้ได้จำนวนมากในระบบการแสดงออกที่เหมาะสม คือระบบการแสดงออกในแบคทีเรีย อี โคไล และ ระบบการแสดงออกในยีสต์ พิเซีย พาซทอริส โดยผู้วิจัยสามารถพัฒนาระบบการแสดงออกที่เหมาะสม ทำให้สามารถผลิตเอนไซม์ออกมาได้เป็นจำนวนมาก และบริสุทธิ์ รวมทั้งยังมีประสิทธิภาพดีในการทำกิจกรรม จากนั้นได้ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์ด้วยวิธีการทาง ชีวสารสนเทศ และ ทางชีวเคมี รวมทั้งยังได้ทดสอบความสามารถในการย่อยแมนแนนจากแหล่งต่างๆ ผลจากการศึกษาพบว่าเอนไซม์มีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมด้านต่างๆ รวมทั้งการผลิตแมนแนนสายสั้นที่เป็นพรีไบโอติกจากกากมะพร้าวต่อไป ผลสำเร็จจากโครงการวิจัยนี้ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติ ๒ เรื่อง และ เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโทและเอกของนักศึกษาอย่างละ ๑ เรื่อง รวมทั้งเอนไซม์ต้นแบบ และจุลชีพต่างๆ ที่สามารถนำไปต่อยอดเพื่อการวิจัยประยุกต์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

We have successfully improved the enzymes that are suitable for the production of prebiotics from copra. The enzymes that have been improved in this research project came from four microorganisms namely, *Aspergillus niger* BK01, *Bacillus licheniformis* DSM 8785 and 13, and *Bacillus subtilis* 168. The methods that are used in this study were based on genetic engineering techniques starting from PCR cloning of mannanase genes and over-expressing them in appropriate expression systems i.e. *E. coli* and *Pichia pastoris*. We were able to optimize the production of the enzymes such that a large amount of purified and active enzymes could be obtained. After that the enzyme properties were characterized by bioinformatics and biochemical methods. The results from enzyme analysis revealed that all enzymes are appropriate for industrial applications including bioconversion of copra mannan to prebiotics manno-oligosaccharide. The outcomes from this project have led to two publications in international journal and master and PhD thesis as well as improved enzymes and selected microorganism that can be the basis for future research in industrial-scale in the future.