

228119

การผลิตแลคเคสจากเชื้อร้า *Ganoderma lucidum* ห้อง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ SP5 CHEM KKU 1 KC 3 และ BOT พบว่า *G.lucidum* สายพันธุ์ CHEM มีการผลิตแลคเคสที่สุด ภาวะที่เหมาะสมต่อ การผลิตแลคเคสในอาหารสูตร Production ปริมาตร 100 มลลิกรัม พบว่า มีการผลิตแลคเคสที่สุด (0.007 ยูนิตต่อมลลิกรัม โปรตีน) เมื่อมีการเติม  $Cu^{2+}$  0.4 มิลลิโมลาร์ และตัววิเคราะห์ที่เป็นฟองน้ำ ขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 50 ชิ้น ลงในอาหาร เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศา เชลลเซียส ความเร็วของ การเติม 150 รอบต่อนาที เมื่อนำออก ใช้มีผลิตได้สามารถนำไปทำให้ บริสุทธิ์บางส่วนด้วยการอัลตราไฟว์เจลลัน ตกลงกันด้วยเกลือแอน โนเนียมชัลเฟต์ที่ความเข้มข้น อิ่มตัว 50 – 80 เบอร์เซนต์ และทำไอโอดินออกไซด์ โกรมาไทร์-กราฟที่มีคอลัมน์เป็น HiTrap DEAE Sepharose Fast Flow สามารถแยกแลคเคสได้ มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 20.574 เท่า มีผลผลิตoken ใหม่ 2.787 เบอร์เซนต์ มีค่าแอคติวิตี้ 0.144 ยูนิตต่อมลลิกรัม โปรตีนตามลำดับ เมื่อศึกษาถึงภาวะที่ เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ พบว่า ทำงานได้ดีที่ความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 4.5 เมื่อใช้ โซเดียมอะซิเตบัฟเฟอร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส การนำแลคเคสไปประยุกต์ใช้ในการเปลี่ยน โครงสร้างทางชีวภาพของสารพิษ Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) ห้อง 16 ชนิด (16 US.EPA) พบว่า แลคเคสที่ผลิตได้สามารถลดปริมาณสารประกอบ PAHs ลงได้ โดยใช้แลคเคสที่ ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยไอโอดินออกไซด์ โกรมาไทร์-กราฟ พบว่า สารประกอบ PAHs นี้ จะถูกย่อยลายได้ถึง 62.34 เบอร์เซนต์ โดย Naphthalen, acenaphthylene phenanthrene flourene acenaphthene anthracene fluoranthene pyrene และ benzo[b]fluoranthene มีอัตราการถูกย่อยลาย ได้มาก (มากกว่า 50 เบอร์เซนต์) ในขณะที่ dibenzo[a,h]anthracene indeno[1,2,3-cd]pyrene benzo[a]anthracene benzo[k]fluoranthene และ benzo[a]pyrene มีอัตราการย่อยลายที่ (น้อยกว่า 50 เบอร์เซนต์)

228119

*Ganoderma lucidum* strains SP5, CHEM, KKU 1, KC 3, and BOT were used to produce laccase. The maximum enzyme was observed by *G. lucidum* CHEM (0.007 U/mg). The optimum conditions for these fungi in 100 ml Production medium containing 0.4 mM  $Cu^{2+}$  and 1 cm<sup>3</sup> sponge 50 pieces. They were cultivated at 30°C, 150 rpm for 4 days. Enzyme was purified by ultrafiltration, 50-80% ammonium sulphate precipitation, and Ion-exchanged chromatography on HiTrap DEAE Sepharose Fast Flow. After that, one peak laccase was separated. It have the activity increased 20.574 fold and enzyme yield value 2.787 % and 0.144 u/mg protein Optimum conditions for laccase activities was studied. Laccase have the highest activity at sodium acetate buffer pH 4.5, temperature 50 °C. Application of these laccase for 16 mixture PAHs (16 US.EPA) remediation, these PAHs shown 62.34% total degradation by laccase with partial purified by Ion-exchanged chromatography. Naphthalene, acenaphthylene, phenanthrene, flourene, acenaphthene, anthracene, fluoranthene, pyrene, and benzo[b]fluoranthene shown high % degradation rate (more than 50%). While dibenzo[a,h]anthracene, indeno[1,2,3-cd]pyrene benzo[a]anthracene, benzo[k]fluoranthene, and benzo[a]pyrene show low % degradation rate (less than 50%) by partial purified laccase.