

T160343

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การใช้ประโยชน์จากเศษเหลือทึบมันฝรั่งเพื่อการผลิตเอนไซม์  
แอลfa-อะไมเลสโดยเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากดิน

นักศึกษา

นางสาวสายพิณ บุญเกิด

รหัสประจำตัว

44065209

บริษัทฯ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา

เทคโนโลยีชีวภาพ

พ.ศ.

2547

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

รศ.สุจิ ชูจันทร์

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเศษเหลือทึบมันฝรั่งเป็นสับสเตรทในการผลิตเอนไซม์แอลfa-อะไมเลสโดยสภาพให้สภาวะการหมักแบบอาหารแข็งโดยเชื้อ *Bacillus cereus* E90 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากดิน ทำการศึกษาพบว่าเอนไซม์แสดงกิจกรรมสูงสุดเมื่อเชื้อเจริญอยู่ในระยะคงที่ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ คือ ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ปรับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80, soluble starch ร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมชัลเฟต์ร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เป็นแหล่งไนโตรเจน ขนาดอนุภาคของเศษเหลือทึบมันฝรั่งที่ใช้อยู่ระหว่าง 75-850 ไมโครเมตร เดิมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารเดียวเชื้อเท่ากัน 8.0 และบ่มเดียวเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากการศึกษาคุณสมบัติบางประการของเอนไซม์แอลfa-อะไมเลสโดยการทดสอบเอนไซม์ด้วยการทำความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 60-80 และผ่านอัลตราไฟว์เตอร์ชั้นคุณภาพดั้งเดิมที่มีเยื่อกรองขนาด Molecular Weight Cut off 30,000 ดาลตัน (Centricon Plus-20) พนักิกรรมจำเพาะของเอนไซม์เท่ากัน 225.32 ยูนิตต่อ-มิลลิกรัมโปรตีน มีความบริสุทธิ์ 8.50 เท่า พีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลfa-อะไมเลสเท่ากัน 8.0 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เอนไซม์มีความคงตัวในช่วงพีเอชและอุณหภูมิระหว่าง 6.0-8.0 และ 20-60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

**Thesis Title** The Utilization of Potato Wastes for  $\alpha$ -Amylase Production by Selected Soil Bacteria

**Student** Miss Saipin Boonkerd

**Student ID.** 44065209

**Degree** Master of science

**Programme** Biotechnology

**Year** 2004

**Thesis Advisor** Assoc. Prof. Sukjai Choojun

### ABSTRACT

This thesis is a study about the utilization of potato wastes as a substrate for  $\alpha$ -amylase production under solid state fermentation by *Bacillus cereus* E90, a bacterial isolated from soil. The study showed that the highest enzyme activity was obtained at the stationary growth phase after incubation for 48 hours at 37°C. The optimal conditions for enzyme production was 15% (v/w) inoculum size, 80% initial moisture content, 1% (w/w) soluble starch as carbon source, 1% (w/w) ammonium sulphate as nitrogen source, the particle size of potato wastes between 75-850  $\mu$ m, 2% (w/w) calcium chloride added, initial pH was 8.0 and incubated at 37°C. Some properties of  $\alpha$ -amylase was studied by factional precipitation with 95% ethanol at 60-80% concentration and ultrafiltration with centrifugal filter tube (Centricon Plus-20) Molecular Weight Cut off 30,000 Da. The enzyme produced 225.32 Umg<sup>-1</sup> protein with purification 8.50 folds. The optimal pH and temperature for  $\alpha$ -amylase activity was 8.0 and 70°C, respectively. The enzyme was stable at pH and temperature range between 6.0-8.0 and 20-60°C, respectively.