

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การคัดแยกจุลินทรีย์ผลิตโปรตีนเพื่อใช้สำหรับเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์น้ำตาลเอสเทอร์ ในตัวทำละลายอินทรีย์

ชื่อผู้วิจัย สันธวัฒน์ ฤทธิธรรม (หัวหน้าโครงการ)  
คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2558  
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ 2560

ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์  
สาขาวิชา (อ้างอิงตามวช.) เทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

การคัดเลือกจุลินทรีย์ผลิตโปรตีนที่มีความเสถียรในตัวทำละลายอินทรีย์จากตัวอย่างดินสามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้ 8 สายพันธุ์ โดย *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ SU2 เป็นจุลินทรีย์ผลิตโปรตีนที่มีความเสถียรในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ทดสอบมากที่สุด ผลการแยกบริสุทธิ์โปรตีนที่ผลิตจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ดังกล่าว พบว่าสามารถแยกโปรตีนให้มีค่าความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 58.4 เท่า และมีผลได้ของกระบวนการแยกเท่ากับ 33.2% ขนาดโมเลกุลของโปรตีนเท่ากับ 33.86 kDa และมีค่า pI เท่ากับ 6.25 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยาของโปรตีนที่ผ่านกระบวนการแยกบริสุทธิ์คือที่ pH 8.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เอนไซม์มีความคงตัวในช่วง pH 6-8 อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ไอออนของ  $Ba^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  ให้ผลกระตุ้นการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ ขณะที่  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  และ  $Zn^{2+}$  ยับยั้งเอนไซม์ โปรตีนจากจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้อยู่ในกลุ่มของ metalloprotease เนื่องจากถูกยับยั้งด้วย EDTA และ 1,10 phenanthroline โปรตีนบริสุทธิ์ที่แยกได้มีความคงตัวในสารลดแรงตึงผิว (30% v/v triton X, 50% v/v Tween 20, 50% v/v Tween 80) สารออกซิไดซ์ (30% v/v  $H_2O_2$ ) และในตัวทำละลายอินทรีย์ (75% v/v toluene) โดยมีค่าครึ่งชีวิต (half-life) เท่ากับ 30 ชั่วโมง ผลการสังเคราะห์ trehalose ester ด้วยโปรตีนสกัดหยาบจาก *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ SU2 ใน DMF:DMSO (1:1 v/v) พบว่าเกิดผลิตภัณฑ์ที่มี retention time เท่ากับ 6.24 นาทีเมื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC

คำสำคัญ : โปรตีน, ตัวทำละลายอินทรีย์, น้ำตาลเอสเทอร์, เทคโนโลยีสะอาด