179912

ผกาแก้ว เต็มคำขวัญ : วิธีที่เหมาะสมในการขจัดเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยจำลองโดยเดกซ์แทรนเนส. (SUITABLE METHOD FOR DEXTRAN REMOVAL IN SIMULATED CANE JUICE BY DEXTRANASE) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. สุเทพ ธนียวัน, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา 151 หน้า. ISBN: 974-14-2153-2

ทำการหาภาวะเหมาะสมในการนำเดกซ์แทรนเนสจากรา *Penicillium* sp. SMCU 3-14 ไปใช้ในการกำจัดเดกซ์แทรนที่ปนเปื้อนในน้ำอ้อย โดยเปรียบเทียบแอคติวิตีระหว่างเดกซ์แทรนเนสอิสระ และเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปบนทรายที่ใช้กลูตาร์ลดีไฮด์เป็นสารช่วยในการสร้างพันธะ พบว่า เดกซ์แทรนเนสอิสระมีแอคติวิตีอยู่ในช่วง 250 ถึง 300 หน่วยต่อมิลลิลิตร และมีอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการทำงาน คือ 55 องศาเซลเซียส และ 4.5 ตามลำดับ ในขณะที่แอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปอยู่ในช่วง 40 ถึง 50 หน่วยต่อปริมาณทรายทั้งหมด 5 กรัมที่ใช้ตรึง อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการทำงาน คือ 55 องศาเซลเซียส และ 5.0 ตามลำดับ จากการศึกษาการทำงานของเดกซ์แทรนเนสทั้งแบบอิสระ และแบบตรึงรูปในน้ำอ้อย พบว่ามีความสามารถในการย่อยสลายเดกซ์แทรนได้ดีพอกับในบัฟเฟอร์ นั่นคือ สิ่งสกปรกที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำอ้อยไม่ส่งผลรบกวนการทำงานของเอนไซม์ จากการที่น้ำอ้อยจากโรงงานน้ำตาลมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากซึ่งทำให้เป็นอุปสรรคต่อการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์จึงทำการทดลองต่อโดยใช้สารละลายน้ำตาลทราย 13% แทนน้ำอ้อย พบว่าเอนไซม์ที่ใช้ซึ่งนำมาจากน้ำเลี้ยงเชื้อมีการปนเปื้อนด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทสที่สามารถย่อยสลายน้ำตาลทรายให้น้ำตาลรีดิวซ์ขึ้น จึงทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์บางส่วนโดยผ่านลงในคอลัมน์โครมาโทกราฟี DEAE-BioGel A ซึ่งทำให้สามารถลดการปนเปื้อนเอนไซม์อื่นได้ส่งผลให้แอคติวิตีของเดกซ์แทรนเนสที่ได้เป็น 32,810 หน่วยต่อมิลลิลิตร ค่า Km ต่อเดกซ์แทรน ที-2000 เท่ากับ 2.6305 ไมโครโมล และ Vmax เท่ากับ 3.407 ไมโครโมลเดกซ์แทรนที-2000 ต่อนาที และเมื่อนำมาหา residential time สำหรับการย่อยเดกซ์แทรน 0.1, 0.5, 1 และ 2% ในสารละลายน้ำตาลทราย13% 1 มิลลิลิตร ได้อย่างสมบูรณ์นั้น สามารถใช้เดกซ์แทรนเนส 1 หน่วย ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 6, 12, 16 และ 40 นาที ตามลำดับ และสำหรับเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปให้ค่า Km ต่อเดกซ์แทรน ที-2000 เท่ากับ 1.5146 ไมโครโมล และ Vmax เท่ากับ 1.6622 ไมโครโมลเดกซ์แทรนที-2000 ต่อนาที โดย residential time ในการใช้ เดกซ์แทรนเนสตรึงรูป 1.074 หน่วย ในการย่อยเดกซ์แทรนเท่ากับ 10, 15, 30, และ 50 นาที ตามลำดับ

179912

4572390123 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: Dextranase / Immobilized / *Penicillium* sp. SMCU 3-14

PHAKAKAEW TEMKAMKWAN : SUITABLE METHOD FOR DEXTRAN REMOVAL IN SIMULATED CANE JUICE BY DEXTRANASE. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF.SUTHEP THANIYAVARN, Ph.D., THESIS COADVISOR : ASSIST. PROF.SUPAT CHAROENPORNWATTANA, Ph.D., 151 pp. ISBN : 974-14-2153-2

Optimal conditions for the removal of dextran in cane juice by dextranase from *Penicillium* sp. SMCU 3-14 were carried out. Activity comparison of free enzyme with that of glutaraldehyde covalent immobilized form on 16-20 mesh river sand was in a range of 250 to 300 unit/ml with optimum temperature and pH of 55°C and 4.5, respectively while that of immobilized form was in range of 40 to 50 unit/ml and optimum temperature and pH of 55°C and 5.0. Both free and immobilized dextranase showed ability to degrade dextran equally well in both cane juice and buffer. It was further observed that impurity in cane juice tested did not interfere or inhibit action of the enzyme. However as the high level of reducing sugar in cane juice interfered with the experiment , a simulated cane juice of 13% sucrose solution was therefore employed in the later part of experiment. The high amount of reducing sugar presence in 13% sucrose was product formed by the activity of invertase contaminated in crude dextranase. Partial enzyme purification via ammonium sulfate precipitation and DEAE-BioGel A Column Chromatography gave rise of enzyme with activity of 32,810 unit/ml. The Km value of the enzyme toward its substrate dextran T-2000 was found to be 2.6305 micromole and Vmax of 3.407 micromole/min. Residential time for the degradation of 0.1, 0.5, 1.0 and 2.0% dextran in 1 ml of 13%sugar by 1 unit of purified dextranase was 6, 12, 16 and 40 min, respectively. Km value of the immobilized purified dextranase was 1.5146 micromole and Vmax was 1.6622 micromole/min while residential time for the degradation of 0.1, 0.5, 1.0 and 2.0% dextran in 1 ml of 13%sugar by 1.074 unit of immobilized purified dextranase was 10,15, 30 and 50 min, respectively.