เสาวนีย์ อาภาวศิน: ลักษณะสมบัติของเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp.
(CHARACTERIZATION OF CELLULASE FROM *Acrophialophora* sp.)
อ.ที่ปรึกษา: รศ.ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์, อ. ที่ปรึกษาร่วม: อ.ดร. รัฐ พิชญางกูร;
80 หน้า. ISBN 974-53-1046-8

170684

การศึกษา *Acrophialophora* sp. โดยเปรียบเทียบความสามารถการผลิตเซลลูเลสของสายพันธุ์กลาย (UV10-2) ที่ได้มีการศึกษามาก่อนกับสายพันธุ์ดั้งเดิม ทำการเลี้ยงเชื้อราในอาหารสูตร production (pH เริ่มต้น 5.0) ที่มีแอลฟา-เซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าสายพันธุ์กลายให้ค่าแอคติวิตีเซลลูเลส (เอกโซกลูคาเนส 0.466 U/ml เอนโดกลูคาเนส 2.761 U/ml และเบตา-กลูโคซิเดส 0.051 U/ml) สูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม เอนไซม์อย่างหยาบจากสายพันธุ์กลายมี อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน คือ 60 องศาเซลเซียส และ pH ที่เหมาะสมคือ 5.0 การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของเอนไซม์อย่างหยาบ (จากสายพันธุ์กลาย) ด้วยการผ่านอัลตราฟิลเทรชัน การตกตะกอนแอมโมเนียมซัลเฟต (ความเข้มข้นอิ่มตัว 50-70 เปอร์เซ็นต์) แล้วนำไปทำโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ด้วย Hitrap DEAE Sepharose และ Sepharyl-S-200 HR สามารถแยกเอนโดกลูคาเนส 2 ชนิด (Endo I และ Endo II) เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 13.93 เท่า (Endo I) และ 13.41 เท่า (Endo II) การตรวจสอบแอคติวิตีในเอสดีเอสพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มี carboxymethylcellulose (CMC) พบว่ามีแถบ CMCase ทั้งหมด 2 แถบ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 66 และ 60 กิโลดาลตัน ในขณะที่ขนาดของเอนไซม์เท่ากับ 60 กิโลดาลตัน และ 43 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ด้วยวิธีเจลฟิลเทรชั่นโครมาโทกราฟีโดยใช้คอลัมน์ Sephacryl-S-200 HR เอนไซม์ที่บริสุทธิ์บางส่วนทำงานได้ดีในภาวะเดียวกับเอนไซม์อย่างหยาบ โดยเอนไซม์ค่อนข้างเสถียรในช่วง pH 4.0-8.0 (เป็นเวลา 2 วัน) และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (เป็นเวลา 105 นาที) เอนไซม์สามารถย่อยสลาย CMC ไซแลน กระดาษกรอง Avicel และแอลฟา-เซลลูโลส ได้ดีตามลำดับ แต่ไม่ย่อยสลายเซลโลไบโอส D(-) salicin และ p-NPG เอนไซม์จะถูกยับยั้งด้วย Mn^{2+} มีผลยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือ Hg^{2+} ส่วนไอออน Cu^{2+} กระตุ้นแอกติวิตีของเอนไซม์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต....เสาวนีย์ อาภาวศิน.....
ปีการศึกษา 2547 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4472475823: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORDS: CELLULASE/ ACROPHIALOPHORA/ PURIFICATION //

SAOWANEE ARPAWASIN: CHARACTERIZATION OF CELLULASE FROM *Acrophialophora* sp. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. HUNSA PUNNAPAYAK, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: RATH PICHYANGKURA, Ph.D.; 80 pp. ISBN 974-53-1046-8

170684

Acrophialophora sp. mutant (strain UV 10-2) of this fungus has been previously generated and was used to compare the ability to produce cellulases with the wild type. The fungi were subjected to cellulases production by growing cultures in the production medium (with initial pH at 5.0) containing α-cellulose as a sole carbon source cultivating for 15 days, at 40°C. The mutant gave cellulase activities (exoglucanase 0.466 U/ml, endoglucanase 2.761 U/ml and β-glucosidase 0.051 U/ml) higher than those of the wild type. Crude cellulases from the mutant had optimal temperature at 60°C and optimal pH at 5.0. A partial purification of these crude enzymes (from the mutant) was purified by ultrafiltration, ammonium sulfate (50-70%) precipitation, Hitrap DEAE Sepharose ion-exchange and Sepharyl-S-200 HR gel-filtration chromatography. After purification, two endoglucanases (Endo I and Endo II) were elucidated and activities increased 13.93 fold (Endo I) and 13.41 (Endo II). The activity staining in SDS-PAGE containing with carboxymethylcellulose (CMC) exhibited two CMCase bands with molecular weights 66 kDa (Endo I) and 60 kDa (Endo II) while the molecular weights of 60 (Endo I) and 43 kDa (Endo II) was shown after purification by Sephacryl-S-200 HR gel-filtration. These partial purified enzymes functioned well at the same condition of crude enzymes. They had pH and thermal stabilities at pH 4.0-8.0 (for 2 days) and 60°C (for 105 min), respectively. The enzymes hydrolyzed CMC, xylan, filter paper, avicel and α-cellulose but could not hydrolyze cellobiose, salicin and p-NPG. . The enzymes were inhibited by $Mn^{2+}$and Hg^{2} while they were activated by Cu^{2+}.

Field of study Biotechnology Student's signature Saowanee Arpawasin

Academic year 2004 Advisor's signature

Co-advisor's signature