วาทินี คุณเผือก 2554: การคัดแยก ศึกษาสมบัติ และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสจากแบคทีเรียชอบความร้อนสูงในดิน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์มังกร โรจน์ประภากร, Ph.D. 122 หน้า

คัดแยกแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงจำนวน 121 ไอโซเลท จากตัวอย่างดิน 9 บริเวณที่มีการทับถมและย่อยสลายของชีวมวล โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร Nutrient agar ที่ผสม CMC ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทดสอบเบื้องต้นในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสด้วยวิธี Congo red พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 41 ไอโซเลทที่ปรากฏวงใสรอบโคโลนีบนอาหาร Nutrient agar ที่ผสม CMC ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไอโซเลทดังกล่าวทดสอบการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสในอาหารเหลว Nutrient broth ที่เติม CMC ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าไอโซเลท PA1-1 มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ได้มากที่สุดเท่ากับ 0.60 U/ml และพบกิจกรรมของเอนไซม์เอวิเซลเลสเท่ากับ 0.08 U/ml จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพันธุศาสตร์โมเลกุลของจุลินทรีย์ไอโซโซเลทดังกล่าวจัดเป็น *Thermobifida fusca* ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของ *T. fusca* PA1-1 และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในอาหาร Basal medium ชนิดต่างๆ พบว่าสูตรอาหารชนิดที่ 3 (Lima *et al*., 2005) เหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสได้เท่ากับ 0.95 U/ml ได้ใกล้เคียงกับสูตรอาหารชนิดที่ 1 ในขณะที่สามารถเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์เอวิเซลเลสสูงสุดเท่ากับ 0.605 U/ml ผลจากแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสในอาหารชนิดที่ 3 พบว่ายีสต์ขนมปังเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสได้ดีที่สุด ซึ่งมากกว่ายีสต์สกัด เปบโตน และมอลต์สกัด ตามลำดับ โดยยีสต์สกัดเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์เอวิเซลเลสได้ดีที่สุด ศึกษาลักษณะของเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส พบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอชเท่ากับ 4.0 มีกิจกรรมของเอนไซม์สัมพัทธ์สูงสุดที่อุณหภูมิเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส ความเสถียรของกิจกรรมเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสพบในช่วงพีเอช 4.0-10.0 กิจกรรมของเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสเหลืออยู่มากกว่า 80 % ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 30-60 องศาเซลเซียส ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสด้วยวิธีหาพื้นผิวแบบตอบสนอง (Resonse surface methodology) ประกอบด้วยปัจจัยหลัก ได้แก่ อุณหภูมิและพีเอช พบว่าจากโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและพีเอช มีอิทธิพลต่อการผลิตเอนไซม์ร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สมการกำลังสองที่ได้มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) 0.8060 ($p < 0.05$) สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสสูงสุดที่ 0.859 U/ml อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสและพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 ยืนยันผลในการนำโมเดลไปใช้ด้วยการเพาะเลี้ยง *T. fusca* PA 1-1 ที่สภาวะดังกล่าวในฟลาสก์และถังหมัก วัดกิจกรรมเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสมีค่าเท่ากับ 0.977 และ 1.21 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

/ /

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์