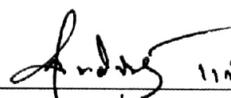


สุชัญญา อรุณสันติโรจน์ 2551: การทำให้บริสุทธิ์และลักษณะของเอนไซม์ย่อยสลาย
ไซแลนจากเห็ดนางรม *Pleurotus ostreatus* DOA 10 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
(เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประชาน
กรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, Ph.D. 103 หน้า

เอนไซม์บีต้า-ไซโลซิเดสจาก *Pleurotus ostreatus* DOA 10 มีสภาวะการทำงานที่เหมาะสมที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและ pH 5.0-5.5 และเมื่อบ่มสารละลายเอนไซม์นาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิและ pH ต่างๆ เอนไซม์บีต้า-ไซโลซิเดสมีความเสถียรสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและที่ pH 4.0-5.5 ในสภาวะอาหารเหลว *P. ostreatus* DOA 10 ผลิตเอนไซม์บีต้า-ไซโลซิเดสสูงสุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน โดยแสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะ 1.248 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน และ *P. ostreatus* DOA 10 ที่เจริญบนขี้เลื่อยในสภาวะอาหารแข็ง จะผลิตเอนไซม์สูงสุดในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง 50 วัน โดยแสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะ 0.055 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน เมื่อศึกษาการเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์บีต้า-ไซโลซิเดส พบว่าน้ำตาลซอร์บิทอลเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์บีต้า-ไซโลซิเดสได้ดีที่สุด ในการทำเอนไซม์ไซแลเนสจาก *P. ostreatus* DOA 10 ให้บริสุทธิ์โดยวิธีอัลตราฟิลเตรชัน เจลฟิลเตรชัน และโครมาโตกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ พบว่าเอนไซม์ไซแลเนส Xyn1 มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 243 เท่า มีผลได้เท่ากับ 1.92 เปอร์เซ็นต์ และมีมวลโมเลกุลประมาณ 54 กิโลดาลตัน สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ Xyn1 คืออุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสและ pH 3.5-4.5 มีความเสถียรสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และที่ pH 3.0-8.0 เมื่อทดสอบความจำเพาะของเอนไซม์ไซแลเนส Xyn1 ต่อสับสเตรทชนิดต่างๆ พบว่าเอนไซม์แสดงกิจกรรมต่อไซแลนจาก birchwood ไซแลนจาก oat spelt และไซแลนจาก larchwood แต่ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ต่อคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เอวิเซล โลคัสบีนกัม และ *p*-nitrophenyl- β -D-xylopyranoside ค่าทางจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ไซแลเนส Xyn1 ต่อไซแลนจาก birchwood และไซแลนจาก oat spelt พบว่ามีค่า K_m เท่ากับ 0.6101 และ 0.4139 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า V_{max} เท่ากับ 0.5843 และ 0.5693 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ

สุชัญญา อรุณสันติโรจน์
ลายมือชื่อนิติ


ลายมือชื่อประธานกรรมการ 23 / wa. / 57

Suchanya Aroonsantiroj 2008: Purification and Characterization of Xylanolytic Enzyme from *Pleurotus ostreatus* DOA 10. Master of Science (Biotechnology), Major Field: Biotechnology, Department of Biotechnology. Thesis Advisor: Assistant Professor Suttipun Keawsompong, Ph.D. 103 pages.

The optimum temperature of β -xylosidase from *Pleurotus ostreatus* DOA 10 was 60 °C and optimum pH was 5.0-5.5. The enzyme was stable at 40 °C for 60 minutes and pH 4.0-5.5. The maximum specific activity of β -xylosidase in liquid culture of *P. ostreatus* DOA 10, for a period of 15 days, reached 1.248 U/mg protein on day 7th. When the *P. ostreatus* DOA 10 was grown on sawdust for 50 days, it showed the maximum specific activity of β -xylosidase on day 20th with specific activity of 0.055 U/mg protein, during mycelium growth phase. Induction ability of various carbon sources was determined. The result revealed that sorbose was the best inducer for β -xylosidase. The purified xylanase Xyn1 of *P. ostreatus* DOA 10 was obtained from ultrafiltration (10 kDa cutoff), gel filtration (Sephacryl S200) and anion exchange chromatography (Q source). It was purified 243-fold at 1.92% recovery with an estimated molecular weight of 54 kDa. The Xyn1 had optimum temperature at 45 °C and optimum pH at 3.5-4.5. It was stable at pH 3.0-8.0 and temperature at 40 °C for 60 minutes. Substrate specificity test revealed that Xyn1 was highly specific to xylan from birchwood, oat spelt and larchwood but no activities were detected against CMC, avicel, locust bean gum and *p*-nitrophenyl- β -D-xylopyranoside. The Michaelis-Menten constant (K_m) and Maximum velocity (V_{max}) of Xyn1 against xylan from birchwood and oat spelt were 0.6101 and 0.4139 mg/ml and 0.5843 and 0.5693 μ g/ml/min, respectively.

ศุภัญญา อรุณสันติโรจน์
Student's signature

S. Keawsompong 23/ May / 2008
Thesis Advisor's signature