

ณัฐรา เพ็ญสุภา 2551: การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้งโดยเห็ดนางรม, *Pleurotus ostreatus* DOA 10 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาชานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, Ph.D. 149 หน้า

ศึกษาการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้งจากเห็ดนางรม *Pleurotus ostreatus* DOA 10 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Mandel's solution ผลการศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอน ชนิดของแหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิและความเป็นกรดต่างเริ่มต้นต่อการผลิตเอนไซม์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์คือเพาะเลี้ยงโดยใช้ซังข้าวโพดที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน เพปโตนที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 5.5 เป็นเวลา 9 วัน ซึ่งจะให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส (EC 3.2.1.4) เอนไซม์เพคตินเอส (EC 3.2.1.15) เอนไซม์ไซลานเนส (EC 3.2.1.8) และเอนไซม์บีต้ากลูคานเนส (EC 3.2.1.6) เป็น 2.650, 3.664, 8.870 และ 18.113 หน่วย/มิลลิกรัม ตามลำดับ การทำสารละลายเอนไซม์ให้เข้มข้นด้วยเทคนิคอัลตราฟิวเตรชันโดยใช้แผ่นกรองที่มีค่ากักกันโมเลกุล 10,000 ดาลตัน ส่งผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส เอนไซม์เพคตินเอส เอนไซม์ไซลานเนสและเอนไซม์บีต้ากลูคานเนสมีค่าสูงขึ้นเป็น 194.72, 366.54, 640.25 และ 336.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นศึกษาผลของสารต่างๆต่อกิจกรรมเอนไซม์และความเสถียรต่ออุณหภูมิของเอนไซม์ พบว่าสารละลายโคบอลต์คลอไรด์ สารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์ สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ จะช่วยเพิ่มค่ากิจกรรมเอนไซม์และไม่ก่อให้เกิดการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง โดยสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟตจะช่วยเพิ่มค่ากิจกรรมเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสสูงสุดโดยมีค่าเพิ่มขึ้น 151.08 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารละลายแมกนีเซียมซัลเฟตจะเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์เพคตินเอสและเอนไซม์ไซลานเนสโดยมีค่าเพิ่มขึ้น 89.17 และ 15.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารละลายโคบอลต์คลอไรด์จะเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์บีต้ากลูคานเนสสูงสุดคือมีค่าเพิ่มขึ้น 44.82 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าสารละลายกลีเซอรอลที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์ จะช่วยรักษาความเสถียรของเอนไซม์โดยเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส เอนไซม์เพคตินเอส เอนไซม์ไซลานเนสและเอนไซม์บีต้ากลูคานเนสยังคงมีกิจกรรมเอนไซม์เหลืออยู่ 11.11, 68.56, 8.31 และ 14.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ 70 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 15 นาที ซึ่งการศึกษาการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้งและผลกระทบของสารต่างๆสามารถนำไปสู่การประยุกต์ใช้ภาคอุตสาหกรรมต่อไป

ณัฐรา เพ็ญสุภา

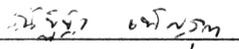
ลายมือชื่อนิติกร

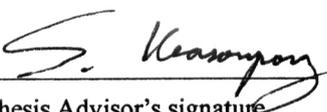
สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์ ๒/๕๓/๕

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Nattha Bensupa 2008: Production of Non Starch Polysaccharide Hydrolase by *Pleurotus ostreatus* DOA 10. Master of Science (Biotechnology), Major Field: Biotechnology, Department of Biotechnology. Thesis Advisor: Assistant Professor Suttipun Keawsompong, Ph.D. 149 pages.

Non starch polysaccharide hydrolase from *Pleurotus ostreatus* DOA 10 grown in submerged culture with Mandels' solution was investigated. The effect of carbon sources, nitrogen source, temperature and initial pH in enzyme production were studied. The result shown the best culture condition of *P. ostreatus* DOA 10 to produced non starch polysaccharide hydrolase was 3 % corncob as sole carbon source, 0.5 % peptone as nitrogen source, incubation at 28°C and pH 5.5 as initial pH for 9 days. The hydrolytic enzyme activities reached maximum on day 9 with 2.650, 3.664, 8.870 and 18.113 unites/ml for carboxymethylcellulase (CMCase, EC 3.2.1.4) pectinase (EC 3.2.1.15) xylanase (EC 3.2.1.8) and beta-glucanase (EC 3.2.1.6), respectively. Enzyme concentration was done by ultrafiltration technique with 10,000 daltons. The concentrated enzymes had 194.72, 366.54, 640.25 and 336.70 % higher than homogenated enzyme for CMCase, pectinase, xylanase and beta-glucanase, respectively. The effects of chemicals to non starch polysaccharide hydrolase activities and thermostability at 70°C were revealed. The result showed that cobalt chloride, magnesium chloride, magnesium sulfate, manganese sulfate, potassium chloride and sodium chloride were gave positive result for enzymes activities. Manganese sulfate could increase activity of CMCase upto 151.08 % and magnesium sulfate increased pectinase and xylanase activities upto 89.17 and 15.72 %, respectively. Betaglucanase was also increased by cobalt chloride. The best stabilizer was 2M glycerol in which enzymes were stable over 70°C for 15 minutes and gave relative activities of CMCase, pectinase, xylanase and beta-glucanase at 11.11, 68.56, 8.31 and 14.22 percentages, respectively. Knowledge of enzyme production and effect of ionic substance and sugar alcohol to stability and activity of non starch polysaccharide hydrolase were lead to using these enzymes for biotechnological application in industry.


Student's signature

 19 / Mar / 2008
Thesis Advisor's signature