ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส โดยเชื้อ *Streptomyces* MK6-16

ชื่อผู้เขียน นางสาวพลับพลึง เทพวิทักษ์กิจ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ : รองศาสตราจารย์ ดร. สายสมร ลำยอง ประธานกรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ไพโรจน์ วิริยจารี กรรมการ
อาจารย์ ดร. ดารารัตน์ ทองขาว กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะต่างๆในการเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* sp. MK6-16 เพื่อให้มีการผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้มากที่สุดโดยตรวจวัดจากการทำงานของเอนไซม์ พบว่าการสังเคราะห์ไคติเนสแล้วปล่อยออกมานอกเซลล์ถูกชักนำด้วยไคติน มีการสร้างไคติเนสที่มีระดับการทำงานสูงที่สุด 1.29 units/ml และ specific activity 3.59 units/mg of protein ในอาหารที่ประกอบด้วย ball-milled chitin 1.5%, wheat bran 3%, $MgSO_4.7H_2O$ 0.2%, KH_2PO_4 0.1%, $FeSO_4$ 0.01% และมี pH เริ่มต้นเท่ากับ 6 ใช้เชื้อตั้งต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลวปริมาณ 3.85% (v/v) บ่มที่อุณหภูมิ 26-29°C พร้อมกับเขย่า 200 rpm เป็นเวลาสี่วัน pH และอุณหภูมิที่เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดคือ 5.0 และ 40 °C ตามลำดับ เอนไซม์สามารถย่อย colloidal chitin, ball-milled chitin, *Schizophyllum commune* cell wall และ carboxymethyl cellulose แต่ไม่ย่อย maltose, cellobiose และ p-nitrophenyl-β-D-N-acetylglucosamine หลังการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 40 % ทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์ขึ้นประมาณ 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ที่ยังไม่ทำให้บริสุทธิ์

Thesis Title Optimization of Chitinase Production by *Streptomyces* MK6-16

Author Miss Plubplung Tepvitukkij

M.S. Biology

Examining Committee : Associate Prof. Dr. Saisamorn Lumyong Chairperson
Assistant Prof. Dr. Pairote Wiriyacharee Member
Lecturer Dr. Dararat Tongkao Member

Abstract

Chitinase production by *Streptomyces* sp. MK6-16 was optimized by assessing activity over a range of cultural conditions. Synthesis of extracellular chitinase was induced by chitin. Highest levels of enzyme activity were 1.29 units/ml, and a specific activity at 3.59 units/mg of protein produced in the medium comprised of 1.5% ball-milled chitin, 3% wheat bran, 0.2% $MgSO_4.7H_2O$, 0.1% KH_2PO_4, 0.01% $FeSO_4$ and initial pH 6, using 3.85%(v/v) seed inoculum. Cultures were incubated at 26-29 °C with shaking at 200 rpm for four days. Optimum pH and temperature for chitinase activity were 5.0 and at 40 °C, respectively. The enzyme hydrolyzed colloidal chitin, ball-milled chitin, *Schizophyllum commune* cell wall and carboxymethyl cellulose, but did not hydrolyze maltose, cellobiose and p-nitrophenyl-β-D-N-acetylglucosamine. After precipitation with 40% saturation ammonium sulfate, the specific activity of chitinase increased about 2-fold compared with crude enzyme.