

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การผลิตไคตินเนสของเชื้อราที่ทนอุณหภูมิสูงโดยวิธีการหมักในสภาพอาหารแข็ง	
ชื่อผู้เขียน	นางสาวกิ่งจันทร์ จุ่มพลกล้า	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิญญา ผลิโกมล อาจารย์ ดร.อุราภรณ์ สอาดสุด อาจารย์ ดร.คารารัตน์ ทองขาว	ประธานกรรมการ กรรมการ กรรมการ

บทคัดย่อ

การแยกเชื้อราที่ทนอุณหภูมิสูง ที่สามารถใช้ colloidal chitin เป็นแหล่งคาร์บอน จากตัวอย่างดิน และเห็ดแห้งปนเปื้อนเชื้อรา สามารถแยกเชื้อราได้ 64 ไอโซเลท นำเชื้อราที่แยกได้ รวมทั้งเชื้อราจากหน่วยเก็บเชื้อ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 6 ไอโซเลท มาทดสอบการผลิตไคตินเนสโดยเพาะเลี้ยงใน Enzyme Production Medium ประกอบด้วย colloidal chitin 0.5% และเพาะเลี้ยงร่วมกับ *Lactobacillus* sp. PJ15 เขย่าที่ 200 รอบ/นาที บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา 8 ไอโซเลทที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ *Lactobacillus* sp. PJ15 ให้ค่าไคตินเนสสูงอยู่ระหว่าง 85.86-171.57 mU/ml ทดสอบการผลิตไคตินเนสของเชื้อรา 8 ไอโซเลทบนอาหารแข็งเปลือกกุ้งบดเปรียบเทียบกับอาหารแข็งกระดองปูบดในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อราไอโซเลท SP6 เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งบดให้ค่าไคตินเนสสูงสุดเท่ากับ 10.31 mU/g initial dry substrate (mU/gIDS) และ specific activity เท่ากับ 5.00 mU/mg protein เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราไอโซเลท SP6 พบว่าเป็น *Aspergillus fumigatus* ซึ่งแยกได้จากดินบริเวณน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่

เมื่อเพาะเลี้ยง *A. fumigatus* SP6 ในอาหารแข็งเปลือกกุ้งบดที่ผสมข้าวโพดหมักน้ำเชื้อ หรือกรดแลกติก 5% หรือ *Lactobacillus* sp. PJ15 5% ให้ค่าไคตินเนสอยู่ระหว่าง 1.35-14.14 mU/ml และ

จากการเปรียบเทียบการผลิตโคตินระหว่างการใช้เปลือกกุ้งสกัดเป็นสับสเตรทแทนเปลือกกุ้งบด และ/หรือ ผสมข้าวโพดหมักน้ำเชื้อ หรือกรดแลคติก 5% หรือ *Lactobacillus* sp. PJ15 5% พบว่า เชื้อราที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งสกัดผสมข้าวโพดหมักให้ค่าโคตินสูงสุดที่สุกเท่ากับ 6.58 mU/gIDS และ specific activity เท่ากับ 2.20 mU/mg protein

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ *A. fumigatus* SP6 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งสกัด 2 กรัม ผสมฟางข้าว 2 กรัม บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 7 วัน ใช้เชื้อตั้งต้น 3 ml ในรูปเส้นใยและสปอร์แขวนลอย (10^8 spores/ml) ให้โคตินสูงสุด 19.40 mU/gIDS และ specific activity เท่ากับ 36.96 mU/mg protein

Thesis Title	Chitinase Production by Thermotolerant Fungi Using Solid State Fermentation	
Author	Ms. Kingchan Choomponla	
M.S.	Biology	
Examining Committee	Assist. Prof. Abhinaya Plikomol	Chairperson
	Instructor Dr. Uraporn Sardsud	Member
	Instructor Dr. Dararat Tongkao	Member

Abstract

Sixty four isolates of thermotolerant molds capable of using colloidal chitin as carbon source were isolated from various soil samples and molds infected dry mushrooms. These isolates including 6 isolates of molds from Microbiology Section, Chiang Mai University culture collection were tested for chitinase production by culturing in Enzyme Production Medium, containing 0.5% colloidal chitin using co-culture with *Lactobacillus* sp. PJ15. The cultures were incubated at 37°C for 7 days with shaking at 200 rpm/min. Eight isolates inoculated with *Lactobacillus* sp. PJ15 gave high chitinase in the range of 85.86-171.57 mU/ml. Chitinase production by those 8 isolates, using solid state cultivation of crushed shrimp and crab shells was performed in petri dish and incubated at 37°C for 7 days. It was found that isolate SP6 from crushed shrimp shell produced the highest chitinase of 10.31 mU/g initial dry substrate (mU/gIDS) and specific activity of 5.00 mU/mg protein. Morphological study revealed that isolate SP6 was *Aspergillus fumigatus*. This isolate was obtained from soil at a hot spring in Sankampeng District, Chiang Mai Province.

The cultivation of *A. fumigatus* SP6 in crushed shrimp shell mixed with corn silage or 5% lactic acid or 5% *Lactobacillus* sp. PJ15, gave chitinase in the range of 1.35-14.14 mU/ml. Comparison of solid state cultivation between crushed shrimp shell and shrimp shell extract, and/ or mixed with corn silage or 5% lactic acid or 5% *Lactobacillus* sp. PJ15 indicated that the maximum chitinase production of 6.58 mU/gIDS and specific activity of 2.20 mU/mg protein was from shrimp shell extract mixed with corn silage.

The optimal conditions for chitinase production of *A.fumigatus* SP6 in solid state cultivation were 2 grams of shrimp shell extract mixed with 2 grams rice straw incubated at 30°C for 7 days, using 3 ml of inoculum comprising mycelium and spore suspension (10^8 spores/ml), gave the maximum yield of chitinase of 19.40 mU/gIDS and specific activity of 36.96 mU/mg protein.