

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การแยกและการคัดเลือกแบคทีเรียทนความร้อนที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส	
ชื่อผู้เขียน	นางสาวจุฑาธัญญา ทรุชคิลกานันท์	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์มรกต ตุ๊กโชติรัตน์	ประธานกรรมการ
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิญญา พลิกอมล	กรรมการ
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี พิรพรพิศาล	กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียทนร้อนจากดินตามแหล่งต่างๆ ในจังหวัดเชียงใหม่ได้ทั้งหมด 122 ไอโซเลท นำแต่ละไอโซเลทมาเพาะเลี้ยงบน carboxymethylcellulose (CMC) agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบความสามารถในการย่อยสลาย CMC ด้วย 0.1% congo red และ 1 M NaCl ปรากฏผลของการเกิดวงใสรอบรอยเจริญของเชื้อเป็นจำนวน 77 ไอโซเลท และเมื่อทดสอบความสามารถในการผลิตเซลลูเลสโดยการเพาะเลี้ยงใน CMC broth เจาะด้วยความเร็วรอบ 140 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน พบว่าไอโซเลท CMU4-4 ให้ค่า enzyme activity สูงสุดเท่ากับ 0.066 ยูนิต/มิลลิลิตร และค่า specific activity เท่ากับ 0.110 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน เมื่อนำไอโซเลท CMU4-4 มาศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูเลส พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อใน cellulase producing medium โดยมี CMC ความเข้มข้น 0.1% เป็นแหล่งคาร์บอน แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01% และ yeast extract 0.01% เป็นแหล่งไนโตรเจน บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส pH 7 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบ/นาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง วัดค่า enzyme activity และ specific activity ได้สูงสุดเท่ากับ 0. มีอัตราการให้อากาศเท่ากับ 180 รอบ/นาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง วัดค่า enzyme activity และค่า specific activity ได้สูงสุดเท่ากับ 0.024 ยูนิต/มิลลิลิตร และ 0.044 ยูนิต/มิลลิลิตรโปรตีน ตามลำดับ และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทางชีวเคมีบางประการพบว่าไอโซเลท CMU4-4 เป็น *Bacillus subtilis*

Thesis Title Isolation and Selection of Thermotolerant Bacteria Capable of Producing Cellulase

Author Miss Chutatan Krootdilaganandh

M.S. Biology

Examining Committee

Assistant Professor Morakot Sukchotiratana	Chairperson
Assistant Professor Abhinya Plikomol	Member
Assistant Professor Dr. Yuwadee Peerapornpisal	Member

Abstract

One hundred and twenty two isolates of thermotolerant bacteria from soil were isolated from different areas of Chiang Mai Province. Each isolate was grown on carboxymethylcellulose (CMC) agar, incubated at 37 °C for 24 hours and tested for CMC degradation with 0.1% congo red and 1 M NaCl. Seventy seven isolates were found to be positive giving clear zone around the growth. The ability to produce cellulase was tested by growing the organism in CMC broth at room temperature with shaking at 140 rpm for 3 days. It was found that isolate CMU4-4 gave the highest enzyme activity of 0.066 unit/millilitre and specific activity of 0.110 unit/milligram protein. The optimal conditions for cellulase production were to grow the organism in cellulase producing medium supplemented with 0.1% CMC as carbon source, 0.01% ammonium chloride and 0.01% yeast extract as nitrogen source, incubated at 45 °C, pH 7 with shaking at 180 rpm for 12 hours. The highest enzyme activity and specific activity were 0.024 unit/millilitre and 0.044 unit/milligram protein, respectively. Morphological and biochemical studies indicated that isolates CMC4-4 was *Bacillus subtilis*.